(19)日本国特許庁（ＪＰ）　(12)**公開特許公報**（Ａ）　(11)特許出願公開番号

特開平8－127591

(43)公開日　平成８年(1996)５月21日

(51)Int.Cl.[6]	識別記号	庁内整理番号	Ｆ Ｉ	技術表示箇所
Ｃ０７Ｋ　7/06		8318－4H		
Ａ６１Ｋ　38/00	ＡＢＣ ＡＥＤ			
			Ａ６１Ｋ　37/ 02　ＡＢＣ ＡＥＤ	

審査請求　未請求　請求項の数13　ＦＤ　（全 20 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願平7－200221

(22)出願日　平成７年(1995)７月14日

(31)優先権主張番号　特願平6－242137

(32)優先日　平６(1994)９月10日

(33)優先権主張国　日本（ＪＰ）

(71)出願人　000155908
株式会社林原生物化学研究所
岡山県岡山市下石井１丁目２番３号

(72)発明者　斉藤　三郎
東京都品川区西五反田２丁目30番10－1101号

(72)発明者　日野　克彦
岡山県岡山市奥田１丁目７番10－204号

(72)発明者　谷口　美文
岡山県岡山市平井５丁目３番30－５号

(72)発明者　栗本　雅司
岡山県岡山市学南町２丁目７番25号

(54)【発明の名称】　ペプチドとその用途

(57)【要約】

【課題】　本質的にスギ花粉アレルゲンのＴ細胞エピトープからなるペプチド及びそれに相同的なペプチドと、それらペプチドを有効成分として含んでなる免疫療法剤を提供する。

【解決手段】　スギ花粉アレルゲンに特異的なイムノグロブリンＥ抗体に実質的に反応せず、^{3}Ｈ－チミジンの取込みにより判定する方法で試験すると、陰性対照と比較して、スギ花粉アレルゲンに特異的なＴ細胞を有意に活性化するペプチドと、そのペプチドを有効成分として含んでなる免疫療法剤を構成とする。

1

【特許請求の範囲】

【請求項１】　スギ花粉アレルゲンに特異的なイムノグロブリンＥ抗体に実質的に反応せず、^{3}Ｈ－チミジンの取込みにより判定する方法で試験すると、陰性対照と比較して、スギ花粉アレルゲンに特異的なＴ細胞を有意に活性化するペプチド。

【請求項２】　配列表における配列番号１乃至７に示すアミノ酸配列のいずれかを含んでなる請求項１に記載のペプチド。

【請求項３】　配列表における配列番号８乃至１３に示すいずれかのアミノ酸配列又はそのアミノ酸配列に相同的なアミノ酸配列を含んでなる請求項１又は２に記載のペプチド。

【請求項４】　請求項１に記載のペプチドにおける配列表の配列番号１に記載のアミノ酸配列。

【請求項５】　請求項１に記載のペプチドにおける配列表の配列番号２に記載のアミノ酸配列。

【請求項６】　請求項１に記載のペプチドにおける配列表の配列番号３に記載のアミノ酸配列。

【請求項７】　請求項１に記載のペプチドにおける配列表の配列番号４に記載のアミノ酸配列。

【請求項８】　請求項１に記載のペプチドにおける配列表の配列番号５に記載のアミノ酸配列。

【請求項９】　請求項１に記載のペプチドにおける配列表の配列番号６に記載のアミノ酸配列。

【請求項１０】　請求項１に記載のペプチドにおける配列表の配列番号７に記載のアミノ酸配列。

【請求項１１】　有効成分として請求項１乃至３に記載のペプチドを含んでなる免疫療法剤。

【請求項１２】　有効成分として請求項１乃至３に記載のペプチドを０．０１乃至１００％（ｗ／ｗ）含んでなる請求項１１に記載の免疫療法剤。

【請求項１３】　安定剤又は賦形剤として血清アルブミン、ゼラチン、マンニトール、マルトース及び／又はトレハロースを含む請求項１１又は１２に記載の免疫療法剤。

【発明の詳細な説明】

【０００１】

【発明の属する技術分野】この発明は、新規ペプチドとその用途、とりわけ、スギ花粉アレルゲンに特異的なＴ細胞を活性化するペプチドと、そのペプチドを有効成分として含んでなる免疫療法剤に関する。

【０００２】

【従来の技術】ここ十数年来、我国においては、春先になるとスギ花粉症による鼻炎や結膜炎を訴える人の数が増加し続けている。患者の数が多いことと、発症季がいろいろな行事が続く春先ということもあり、マスコミなどでも頻繁に取上げられ、今や、公衆衛生上無視できない問題の一つになっている。

【０００３】スギ花粉症はアレルギー症の一種であり、

2

その主因はスギ花粉中の抗原性物質、すなわち、スギ花粉アレルゲンであると云われている。大気中に飛散したスギ花粉がヒトの体内に侵入すると、スギ花粉アレルゲンに対するイムノグロブリンＥ抗体が産生する。この状態で次にスギ花粉が侵入すると、その花粉中のアレルゲンとこのイムノグロブリンＥ抗体が免疫反応を起し、アレルギー症状を呈することとなる。

【０００４】現在、スギ花粉中には、抗原性の相違する少なくとも二種類のアレルゲンの存在することが知られている。その一つは、ヤスエダらが『ジャーナル・オブ・アレルギー・アンド・クリニカル・イムノロジー』、第７１巻、第１号、第７７～８６頁（１９８３年）に報告しているアレルゲンであり、今日、これは「Ｃｒｙｊ　Ｉ」と呼称されている。もう一つは、タニアイら『エフ・イー・ビー・エス・レターズ』、第２３９巻、第２号、第３２９～３３２頁（１９８８年）やサカグチら『アレルギー』、第４５号、第３０９～３１２頁（１９９０年）に報告されているアレルゲンであり、今日、これは「Ｃｒｙ　ｊ　ＩＩ」と呼称されている。スギ花粉中には、通常、Ｃｒｙ　ｊ　ＩとＣｒｙ　ｊ　ＩＩが約５０：１乃至５：１の割合で存在し、花粉症患者から採取した血清の殆どがＣｒｙ　ｊＩにもＣｒｙ　ｊ　ＩＩにも反応すると云われている。澤谷らは、『アレルギー』、第４２巻、第６号、第７３８～７４７頁（１９９３年）において、Ｃｒｙｊ　ＩＩが、皮内試験やＲＡＳＴ試験すると、Ｃｒｙ　ｊ　Ｉと同程度の抗原性を発揮すると報告している。

【０００５】このように、スギ花粉アレルゲンが既に幾つか単離され、その性質・性状もある程度解明されたことから、精製スギ花粉アレルゲンをヒトに投与して減感作することにより、スギ花粉症を治療・予防できる見通しがついてきた。最近ではそのための減感作剤も幾つか考案されており、例えば、特開平１－１５６９２６号公報や特開平３－９３７３０号公報には、Ｎ末端からのアミノ酸配列がＡｓｐ－Ａｓｎ－Ｐｒｏ－Ｉｌｅ－Ａｓｐ－Ｓｅｒ又はＡｌａ－Ｉｌｅ－Ａｓｎ－Ｉｌｅ－Ｐｈｅ－Ａｓｎで表わされるスギ花粉アレルゲンに糖質を共有結合せしめ、生成した複合体を減感作剤としてヒトに投与する提案が為されている。しかしながら、アレルギー症の診断や減感作療法には、通常、高純度のアレルゲンが大量に必要とされるところ、スギ花粉中のアレルゲンは僅少であるうえに安定性が低く、スギ花粉症の診断剤や減感作剤をスギ花粉だけで賄おうとすると、多大の困難が伴なうと予想される。

【０００６】このようなことから、最近のアレルギー疾患の治療・予防においては、これまでのように、患者にアレルゲン全体を投与するのではなく、アレルゲンにおけるＴ細胞が特異的に認識する最小領域、すなわち、本質的にＴ細胞エピトープからなる低分子のペプチドを投与する免疫療法が注目を浴びつつある。

【０００７】一般に、アレルゲンは、マクロファージなどの抗原提示細胞に取込まれると、そこで消化され、消化断片が免疫提示細胞表層のＨＬＡ蛋白質に結合し、抗原提示されることとなる。抗原提示される断片は、ＨＬＡ蛋白質に対する親和性などにより、アレルゲンにおける一部の特定領域に限られ、斯かる領域のうち、Ｔ細胞が特異的に認識する領域は、通常、「Ｔ細胞エピトープ」と呼称される。本質的にＴ細胞エピトープからなるペプチドを投与する免疫療法には、

（ｉ）　ペプチドがＢ細胞エピトープを欠いている、すなわち、アレルゲンに特異的なイムノグロブリンＥ抗体が反応しないので、従来の粗製又は精製アレルゲンで頻発していたアナフィラキシーなどの副作用が起こり得ない。

（ｉｉ）　少量からスタートし、有効投与量に達するまでの期間が、従来の減感作剤に比較して、大幅に短縮できる。などの利点がある。

【０００８】目下、種々のアレルゲンのＴ細胞エピトープが精力的に解析されているが、Ｔ細胞エピトープの解析には、通常、アレルゲンの全アミノ酸配列が必須となり、少なくともスギ花粉アレルゲンに関するかぎり、Ｔ細胞エピトープは実質的に解明されるに到っていないというのが実状である。

【０００９】

【発明が解決しようとする課題】斯かる状況に鑑み、この発明の第一の課題は、本質的にスギ花粉アレルゲンのＴ細胞エピトープからなるペプチド及びそれに相同的なペプチドを提供することにある。

【００１０】この発明の第二の課題は、有効成分として上記ペプチドを含んでなる免疫療法剤を提供することにある。

【００１１】

【課題を解決するための手段】この発明は、前記第一の課題を、スギ花粉アレルゲンに特異的なイムノグロブリンＥ抗体に実質的に反応せず、^{3}Ｈ－チミジンの取込みにより判定する方法で試験すると、陰性対照と比較して、スギ花粉アレルゲンに特異的なＴ細胞を有意に活性化するペプチドにより解決するものである。

【００１２】この発明は、前記第二の課題を、有効成分として斯かるペプチドを含んでなる免疫療法剤により解決するものである。

【００１３】

【発明の実施の形態】この発明のペプチドは、スギ花粉アレルゲンに特異的なイムノグロブリンＥ抗体に実質的に反応しないので、ヒトを含む哺乳類一般に投与すると、実質的にアナフィラキシーを引起こすことなく、スギ花粉アレルゲンに特異的なＴ細胞を活性化する。

【００１４】有効成分として斯かるペプチドを含んでなるこの発明の免疫療法剤は、ヒトを含む哺乳類一般に投与すると、実質的にアナフィラキシーを引起こすことなく、スギ花粉症に対して顕著な治療・予防効果を発揮する。

【００１５】以下、実験例、実施例等によりこの発明を説明するに、この発明は、本質的にスギ花粉アレルゲンのＴ細胞エピトープからなるペプチドの発見に基づくものである。

【００１６】本発明者らは、長年に亙るスギ花粉アレルゲンに係わる研究の一成果として、昨年、スギ花粉アレルゲンの主たる１成分が配列表における配列番号１４に示すアミノ酸配列を有することを突止め、特願平５－３４４５９６号明細書に開示した。一方、国際特許公開第９３／０１２１３号明細書には、スギ花粉アレルゲンの別の１成分が、配列表における配列番号１５に示すアミノ酸配列を有すると開示されており、本発明者らも、平成６年４月１４乃至１６日に熊本県熊本市で開催された『第６回日本アレルギー学会春期臨床大会』において、同じアミノ酸配列を発表している。

【００１７】そこで、本発明者が、スギ花粉アレルゲンのＴ細胞エピトープを解明すべく、これら配列番号１４及び１５に示すアミノ酸配列に基づき、それらアミノ酸配列における連続する１１、１４又は１７個のアミノ酸残基からなる、１８０余種の互いに相違するアミノ酸配列のペプチドを合成し、スギ花粉アレルゲンに特異的なイムノグロブリンＥ抗体に対する反応性と、スギ花粉アレルゲンに特異的なＴ細胞に対する活性化作用につき試験した。その結果、配列表における配列番号８乃至１３に示すアミノ酸配列を有するペプチドは、スギ花粉アレルゲンに特異的なイムノグロブリンＥ抗体に実質的に反応せず、また、^{3}Ｈ－チミジンの取込みにより判定する方法で試験すると、陰性対照と比較して、スギ花粉アレルゲンに特異的なＴ細胞を有意に活性化することが明らかとなった。このことは、それら配列番号８乃至１３に示すアミノ酸配列を有するペプチドが本質的にスギ花粉アレルゲンのＴ細胞エピトープからなるものであることを示唆している。また、その配列番号８乃至１３に示すアミノ酸配列をさらに解析したところ、配列表の配列番号１乃至７に示すアミノ酸配列は、Ｔ細胞が配列番号８乃至１３に示すアミノ酸配列のペプチドを認識するために不可欠の配列であることが判明した。

【００１８】次の実験例１及び２では、これら事実を解明するに到った一連の実験について説明する。

【００１９】

【実験例１　ペプチド及びスギ花粉アレルゲンの調製】

【００２０】

【実験例１－１　ペプチドの調製】前述のとおり、これまで、スギ花粉には、性質・性状の相違する、少なくとも２種類のアレルゲンの存在することが知られている。これらスギ花粉アレルゲンの成熟蛋白質は、組換えＤＮＡ技術により、配列表における配列番号１４又は１５に示すアミノ酸配列を有することが明らかにされており、

現に、スギ花粉からは、配列番号１４に示すアミノ酸配列における第４６乃至４３３番目又は第５１乃至４３３番目に相当するアミノ酸配列のスギ花粉アレルゲン（以下、「アレルゲンＡ」と云う。）と、配列番号１５に示すアミノ酸配列における第１乃至３５３番目のアミノ酸配列を有するスギ花粉アレルゲン（以下、「アレルゲンＢ」と云う。）が単離されている。なお、アレルゲンＡをコードする遺伝子においては、未だ、シグナルペプチドが確定されていないので、配列番号１４においては、暫定的に、ｃＤＮＡの塩基配列から解読したアミノ酸配列におけるＮ末端側の最初のアミノ酸残基に符号「１」を付している。

【００２１】本実験例では、配列表における配列番号１４に示すアミノ酸配列については、その第４６乃至４３３番目の領域に亙り、アミノ酸残基を１０個ずつ重複させながら、１１又は１４個のアミノ酸残基からなる、９５種類の相違するアミノ酸配列のペプチド（試料Ａ－１乃至Ａ－９５）を化学合成する一方、配列番号１５に示すアミノ酸配列については、その第１乃至３５３番目の領域に亙り、同じく、アミノ酸残基を１０個ずつ重複させながら、１４個のアミノ酸残基からなる、８６種類の相違するアミノ酸配列のペプチド（試料Ｂ－１乃至Ｂ－８６）を化学合成し、この発明のペプチドを検索するための後記実験例２に供した。

【００２２】すなわち、常法にしたがって、１１又は１４個のアミノ酸残基からなり、後記表１乃至６に示すアミノ酸配列を有する１８１種類のペプチドをケンブリッジ・リサーチ・バイオケミカルズ製ペプチド合成キット『マルチピン』を使用する固相法により合成し、合成後、その一部をとり、パーキン・エルマー製ペプチドシーケンサー『４７０Ａ型』により分析して所期のアミノ酸配列を有していることを確認した。

【００２３】

【実験例１－２　スギ花粉アレルゲンの調製】秋田県産ウラスギの雄花から採取した花粉１重量部を約１６重量部の０．１２５Ｍ炭酸水素ナトリウム水溶液（ｐＨ８．２）に浸漬し、穏やかに撹拌しながら、４℃で１時間抽出した。抽出物を遠心分離し、残渣を上記と同様に再度抽出し、得られた上清と初回の上清をプールし、これにセタブロンを０．１％（ｗ／ｖ）になるように加え、緩やかに撹拌しながら、４℃で１時間静置して多糖類を沈澱させ、遠心分離後、上清に硫酸アンモニウムを８０％飽和になるように加え、４℃で一昼夜静置して塩析した。

【００２４】塩析物における沈澱部を採取し、これを５０ｍＭトリス－塩酸緩衝液（ｐＨ７．８）に対して１０時間透析し、濾過後、予め５０ｍＭトリス－塩酸緩衝液（ｐＨ７．８）で平衡化させておいたＤＥＡＥ－セファデックスカラムに負荷し、カラムに新鮮な同一緩衝液を通液して蛋白質成分を含む画分を溶出させた。この画分を採取し、酢酸を加えてｐＨ５．０に調整後、予め１０ｍＭ酢酸緩衝液（ｐＨ５．０）で平衡化させておいたＣＭ－セファデックスカラムに負荷し、カラムを１０ｍＭ酢酸緩衝液（ｐＨ５．０）で洗浄後、カラムに０．３Ｍ塩化ナトリウムを含む０．１Ｍ燐酸緩衝液（ｐＨ７．０）を通液し、蛋白質成分を含む画分を採取した。

【００２５】次に、この画分に予め１０ｍＭ酢酸緩衝液（ｐＨ５．０）で平衡化させておいたＭｏｎｏ　Ｓカラムに負荷し、カラムを１０ｍＭ酢酸緩衝液（ｐＨ５．０）で洗浄後、０Ｍから０．５Ｍに上昇する塩化ナトリウムの濃度勾配下、カラムに１０ｍＭ燐酸緩衝液（ｐＨ７．０）を通液したところ、０．１乃至０．３付近の塩化ナトリウム濃度でアレルゲンＢが、また、０．４Ｍ付近の塩化ナトリウム濃度でアレルゲンＡが溶出した。アレルゲンＡ又はＢを含む画分を別々に採取し、適宜濃縮後、凍結乾燥して次の実験例２に供した。収量は、原料スギ花粉固形分当たり、アレルゲンＡで約０．０１％、アレルゲンＢで約０．０２％であった。

【００２６】

【実験例２　スギ花粉アレルゲンのＴ細胞エピトープを含むペプチドの検索】

【００２７】

【実験例２－１　スギ花粉アレルゲンに特異的なＴ細胞の活性化】フィコール・ハイパック比重遠心法により、花粉症患者のヘパリン加末梢血からスギ花粉アレルゲンに特異的なＴ細胞を含む単核細胞群を分離した。この単核細胞群を５％（ｖ／ｖ）ＡＢ血清を補足したＲＰＭＩ１６４０培地（ｐＨ７．０）に浮遊させ、９６ウェルマイクロプレート上に5×10^5個／ウェルずつ分注し、実験例１－１及び１－２で調製したペプチド又はスギ花粉アレルゲンを１μｇ／ウェル加え、新鮮な同一培地で２００μｌ／ウェルとした後、５％CO_2培養器中、３７℃で２日間インキュベートした。その後、^{3}Ｈ－チミジンを１．０μＣｉ／ウェルずつ加え、同一条件下でさらに１６時間インキュベートした後、シンチレーションカウンタを使用する公知の方法により、単核細胞群における^{3}Ｈ－チミジンの取込み量を測定した。同時に、ペプチドもスギ花粉アレルゲンも含まない系を設け、上記と同様に処置して陰性対照とした。

【００２８】スギ花粉アレルゲンに特異的なＴ細胞に対する活性化作用の有無は、同Ｔ細胞を含む単核細胞群における^{3}Ｈ－チミジンの取込み量（ｃｐｍ）に基づき判定し、取込み量が陰性対照の略２倍以上に達した系を「陽性」、達しなかった系を「陰性」とした。結果を表１乃至６に示す。

【００２９】

【表１】

7　　8

試料	位置	アミノ酸配列	T細胞の活性化	ヒトイムノグロブリンE抗体に対する反応性 (A492)
A-1	46-59	Arg-Lys-Val-Glu-His-Ser-Arg-His-Asp-Ala-Ile-Asn-Ile-Phe	陰性	−
A-2	51-64	Ser-Arg-His-Asp-Ala-Ile-Asn-Ile-Phe-Asn-Val-Glu-Lys-Tyr	陰性	−
A-3	56-68	Ala-Ile-Asn-Ile-Phe-Asn-Val-Glu-Lys-Tyr-Gly-Ala-Val-Gly	陰性	−
A-4	59-72	Phe-Asn-Val-Glu-Lys-Tyr-Gly-Ala-Val-Gly-Asp-Gly-Lys-His	陰性	−
A-5	63-76	Lys-Tyr-Gly-Ala-Val-Gly-Asp-Gly-Lys-His-Asp-Cys-Thr-Glu	陰性	−
A-6	67-80	Val-Gly-Asp-Gly-Lys-His-Asp-Cys-Thr-Glu-Ala-Phe-Ser-Thr	陰性	−
A-7	71-84	Lys-His-Asp-Cys-Thr-Glu-Ala-Phe-Ser-Thr-Ala-Trp-Gln-Ala	陰性	−
A-8	75-88	Thr-Glu-Ala-Phe-Ser-Thr-Ala-Trp-Gln-Ala-Ala-Cys-Lys-Lys	陰性	−
A-9	79-92	Ser-Thr-Ala-Trp-Gln-Ala-Ala-Cys-Lys-Lys-Pro-Ser-Ala-Met	陰性	−
A-10	83-96	Gln-Ala-Ala-Cys-Lys-Lys-Pro-Ser-Ala-Met-Leu-Leu-Val-Pro	陰性	−
A-11	87-100	Lys-Lys-Pro-Ser-Ala-Met-Leu-Leu-Val-Pro-Gly-Asn-Lys-Lys	陰性	−
A-12	91-104	Ala-Met-Leu-Leu-Val-Pro-Gly-Asn-Lys-Lys-Phe-Val-Val-Asn	陰性	−
A-13	95-108	Val-Pro-Gly-Asn-Lys-Lys-Phe-Val-Val-Asn-Asn-Leu-Phe-Phe	陰性	−
A-14	99-112	Lys-Lys-Phe-Val-Val-Asn-Asn-Leu-Phe-Phe-Asn-Gly-Pro-Cys	陰性	−
A-15	103-116	Val-Asn-Asn-Leu-Phe-Phe-Asn-Gly-Pro-Cys-Gln-Pro-His-Phe	陰性	−
A-16	107-120	Phe-Phe-Asn-Gly-Pro-Cys-Gln-Pro-His-Phe-Thr-Phe-Lys-Val	陰性	−
A-17	111-124	Pro-Cys-Gln-Pro-His-Phe-Thr-Phe-Lys-Val-Asp-Gly-Ile-Ile	陰性	−
A-18	115-128	His-Phe-Thr-Phe-Lys-Val-Asp-Gly-Ile-Ile-Ala-Ala-Tyr-Gln	陰性	−
A-19	119-132	Lys-Val-Asp-Gly-Ile-Ile-Ala-Ala-Tyr-Gln-Asn-Pro-Ala-Ser	陽性	−
A-20	123-136	Ile-Ile-Ala-Ala-Tyr-Gln-Asn-Pro-Ala-Ser-Trp-Lys-Asn-Asn	陰性	−
A-21	127-140	Tyr-Gln-Asn-Pro-Ala-Ser-Trp-Lys-Asn-Asn-Arg-Ile-Trp-Leu	陰性	−
A-22	131-144	Ala-Ser-Trp-Lys-Asn-Asn-Arg-Ile-Trp-Leu-Gln-Phe-Ala-Lys	陰性	−
A-23	135-148	Asn-Asn-Arg-Ile-Trp-Leu-Gln-Phe-Ala-Lys-Leu-Thr-Gly-Phe	陽性	−
A-24	139-152	Trp-Leu-Gln-Phe-Ala-Lys-Leu-Thr-Gly-Phe-Thr-Leu-Met-Gly	陰性	−
A-25	143-156	Ala-Lys-Leu-Thr-Gly-Phe-Thr-Leu-Met-Gly-Lys-Gly-Val-Ile	陰性	−
A-26	147-160	Gly-Phe-Thr-Leu-Met-Gly-Lys-Gly-Val-Ile-Asp-Gly-Gln-Gly	陰性	−
A-27	151-164	Met-Gly-Lys-Gly-Val-Ile-Asp-Gly-Gln-Gly-Lys-Gln-Trp-Trp	陰性	−
A-28	155-168	Val-Ile-Asp-Gly-Gln-Gly-Lys-Gln-Trp-Trp-Ala-Gly-Gln-Cys	陰性	−
A-29	159-172	Gln-Gly-Lys-Gln-Trp-Trp-Ala-Gly-Gln-Cys-Lys-Trp-Val-Asn	陰性	−
A-30	163-176	Trp-Trp-Ala-Gly-Gln-Cys-Lys-Trp-Val-Asn-Gly-Arg-Glu-Ile	陰性	−
A-31	167-180	Gln-Cys-Lys-Trp-Val-Asn-Gly-Arg-Glu-Ile-Cys-Asn-Asp-Arg	陰性	−

【表2】

A-32	171-184	Val-Asn-Gly-Arg-Glu-Ile-Cys-Asn-Asp-Arg-Asp-Arg-Pro-Thr	陰性	—	—
A-33	175-188	Glu-Ile-Cys-Asn-Asp-Arg-Asp-Arg-Pro-Thr-Ala-Ile-Lys-Phe	陰性	—	—
A-34	179-192	Asp-Arg-Asp-Arg-Pro-Thr-Ala-Ile-Lys-Phe-Asp-Phe-Ser-Thr	陰性	—	—
A-35	183-196	Pro-Thr-Ala-Ile-Lys-Phe-Asp-Phe-Ser-Thr-Gly-Leu-Ile-Ile	陰性	—	—
A-36	187-200	Lys-Phe-Asp-Phe-Ser-Thr-Gly-Leu-Ile-Ile-Gln-Gly-Leu-Lys	陰性	—	—
A-37	191-204	Ser-Thr-Gly-Leu-Ile-Ile-Gln-Gly-Leu-Lys-Leu-Met-Asn-Ser	陰性	—	—
A-38	195-208	Ile-Ile-Gln-Gly-Leu-Lys-Leu-Met-Asn-Ser-Pro-Glu-Phe-His	陰性	—	—
A-39	199-212	Leu-Lys-Leu-Met-Asn-Ser-Pro-Glu-Phe-His-Leu-Val-Phe-Gly	陰性	—	—
A-40	203-216	Asn-Ser-Pro-Glu-Phe-His-Leu-Val-Phe-Gly-Asn-Cys-Glu-Gly	陰性	—	—
A-41	207-220	Phe-His-Leu-Val-Phe-Gly-Asn-Cys-Glu-Gly-Val-Lys-Ile-Ile	陰性	—	—
A-42	211-224	Phe-Gly-Asn-Cys-Glu-Gly-Val-Lys-Ile-Ile-Gly-Ile-Ser-Ile	陰性	—	—
A-43	215-228	Glu-Gly-Val-Lys-Ile-Ile-Gly-Ile-Ser-Ile-Thr-Ala-Pro-Arg	陰性	—	—
A-44	219-232	Ile-Ile-Gly-Ile-Ser-Ile-Thr-Ala-Pro-Arg-Asp-Ser-Pro-Asn	陰性	—	—
A-45	223-236	Ser-Ile-Thr-Ala-Pro-Arg-Asp-Ser-Pro-Asn-Thr-Asp-Gly-Ile	陰性	—	—
A-46	227-240	Pro-Arg-Asp-Ser-Pro-Asn-Thr-Asp-Gly-Ile-Asp-Ile-Phe-Ala	陰性	—	—
A-47	231-244	Pro-Asn-Thr-Asp-Gly-Ile-Asp-Ile-Phe-Ala-Ser-Lys-Asn-Phe	陰性	—	—
A-48	235-248	Gly-Ile-Asp-Ile-Phe-Ala-Ser-Lys-Asn-Phe-His-Leu-Gln-Lys	陽性	—	—
A-49	239-252	Phe-Ala-Ser-Lys-Asn-Phe-His-Leu-Gln-Lys-Asn-Thr-Ile-Gly	陰性	—	—
A-50	243-256	Asn-Phe-His-Leu-Gln-Lys-Asn-Thr-Ile-Gly-Thr-Gly-Asp-Asp	陰性	—	—
A-51	247-260	Gln-Lys-Asn-Thr-Ile-Gly-Thr-Gly-Asp-Asp-Cys-Val-Ala-Ile	陰性	—	—
A-52	251-264	Ile-Gly-Thr-Gly-Asp-Asp-Cys-Val-Ala-Ile-Gly-Thr-Gly-Ser	陰性	—	—
A-53	255-268	Asp-Asp-Cys-Val-Ala-Ile-Gly-Thr-Gly-Ser-Ser-Asn-Ile-Val	陰性	—	—
A-54	259-272	Ala-Ile-Gly-Thr-Gly-Ser-Ser-Asn-Ile-Val-Ile-Glu-Asp-Leu	陰性	—	—
A-55	263-276	Gly-Ser-Ser-Asn-Ile-Val-Ile-Glu-Asp-Leu-Ile-Cys-Gly-Pro	陰性	—	—
A-56	267-280	Ile-Val-Ile-Glu-Asp-Leu-Ile-Cys Gly-Pro-Gly-His-Gly-Ile	陰性	—	—
A-57	271-284	Asp-Leu-Ile-Cys-Gly-Pro-Gly-His-Gly-Ile-Ser-Ile-Gly-Ser	陰性	—	—
A-58	275-288	Gly-Pro-Gly-His-Gly-Ile-Ser-Ile-Gly-Ser-Leu-Gly-Arg-Glu	陰性	—	—
A-59	279-292	Gly-Ile-Ser-Ile-Gly-Ser-Leu-Gly-Arg-Glu-Asn-Ser-Arg-Ala	陰性	—	—
A-60	283-296	Gly-Ser-Leu-Gly-Arg-Glu-Asn-Ser-Arg-Ala-Glu-Val-Ser-Tyr	陰性	—	—
A-61	287-300	Arg-Glu-Asn-Ser-Arg-Ala-Glu-Val-Ser-Tyr-Val-His-Val-Asn	陰性	—	—
A-62	291-304	Arg-Ala-Glu-Val-Ser-Tyr-Val-His-Val-Asn-Gly-Ala-Lys-Phe	陰性	—	—
A-63	295-308	Ser-Tyr-Val-His-Val-Asn-Gly-Ala-Lys-Phe-Ile-Asp-Thr-Gln	陰性	—	—
A-64	299-312	Val-Asn-Gly-Ala-Lys-Phe-Ile-Asp-Thr-Gln-Asn-Gly-Leu-Arg	陰性	—	—

【表3】

11　12

A-65	303-316	Lys-Phe-Ile-Asp-Thr-Gln-Asn-Gly-Leu-Arg-Ile-Lys-Thr-Trp	陰性	—	—
A-66	307-320	Thr-Gln-Asn-Gly-Leu-Arg-Ile-Lys-Thr-Trp-Gln-Gly-Gly-Ser	陰性	—	—
A-67	311-324	Leu-Arg-Ile-Lys-Thr-Trp-Gln-Gly-Gly-Ser-Gly-Met-Ala-Ser	陰性	—	—
A-68	315-328	Thr-Trp-Gln-Gly-Gly-Ser-Gly-Met-Ala-Ser-His-Ile-Ile-Tyr	陰性	—	—
A-69	219-332	Gly-Ser-Gly-Met-Ala-Ser-His-Ile-Ile-Tyr-Glu-Asn-Val-Glu	陰性	—	—
A-70	223-336	Ala-Ser-His-Ile-Ile-Tyr-Glu-Asn-Val-Glu-Met-Ile-Asn-Ser	陰性	—	—
A-71	227-340	Ile-Tyr-Glu-Asn-Val-Glu-Met-Ile-Asn-Ser-Glu-Asn-Pro-Ile	陰性	—	—
A-72	231-344	Val-Glu-Met-Ile-Asn-Ser-Glu-Asn-Pro-Ile-Leu-Ile-Asn-Gln	陰性	—	—
A-73	235-348	Asn-Ser-Glu-Asn-Pro-Ile-Leu-Ile-Asn-Gln-Phe-Tyr-Cys-Thr	陰性	—	—
A-74	239-352	Pro-Ile-Leu-Ile-Asn-Gln-Phe-Tyr-Cys-Thr-Ser-Ala-Ser-Ala	陰性	—	—
A-75	243-356	Asn-Gln-Phe-Tyr-Cys-Thr-Ser-Ala-Ser-Ala-Cys-Gln-Asn-Gln	陰性	—	—
A-76	347-360	Cys-Thr-Ser-Ala-Ser-Ala-Cys-Gln-Asn-Gln-Arg-Ser-Ala-Val	陰性	—	—
A-77	351-364	Ser-Ala-Cys-Gln-Asn-Gln-Arg-Ser-Ala-Val-Gln-Ile-Gln-Asp	陰性	—	—
A-78	355-368	Asn-Gln-Arg-Ser-Ala-Val-Gln-Ile-Gln-Asp-Val-Thr-Tyr-Lys	陰性	—	—
A-79	359-372	Ala-Val-Gln-Ile-Gln-Asp-Val-Thr-Tyr-Lys-Asn-Ile-Arg-Gly	陰性	—	—
A-80	363-376	Gln-Asp-Val-Thr-Tyr-Lys-Asn-Ile-Arg-Gly-Thr-Ser-Ala-Thr	陰性	—	—
A-81	367-380	Tyr-Lys-Asn-Ile-Arg-Gly-Thr-Ser-Ala-Thr-Ala-Ala-Ala-Ile	陰性	—	—
A-82	371-384	Arg-Gly-Thr-Ser-Ala-Thr-Ala-Ala-Ala-Ile-Gln-Leu-Lys-Cys	陰性	—	—
A-83	375-388	Ala-Thr-Ala-Ala-Ala-Ile-Gln-Leu-Lys-Cys-Ser-Asp-Ser-Met	陰性	—	—
A-84	379-392	Ala-Ile-Gln-Leu-Lys-Cys-Ser-Asp-Ser-Met-Pro-Cys-Lys-Asp	陰性	—	—
A-85	383-396	Lys-Cys-Ser-Asp-Ser-Met-Pro-Cys-Lys-Asp-Ile-Lys-Leu-Ser	陰性	—	—
A-86	387-400	Ser-Met-Pro-Cys-Lys-Asp-Ile-Lys-Leu-Ser-Asp-Ile-Ser-Leu	陰性	—	—
A-87	391-404	Lys-Asp-Ile-Lys-Leu-Ser-Asp-Ile-Ser-Leu-Lys-Leu-Thr-Ser	陰性	—	—
A-88	395-408	Leu-Ser-Asp-Ile-Ser-Leu-Lys-Leu-Thr-Ser-Gly-Lys-Ile-Ala	陽性	—	—
A-89	399-412	Ser-Leu-Lys-Leu-Thr-Ser-Gly-Lys-Ile-Ala-Ser-Cys-Leu-Asn	陰性	—	—
A-90	403-416	Thr-Ser-Gly-Lys-Ile-Ala-Ser-Cys-Leu-Asn-Asp-Asn-Ala-Asn	陰性	—	—
A-91	407-420	Ile-Ala-Ser-Cys-Leu-Asn-Asp-Asn-Ala-Asn-Gly-Tyr-Phe-Ser	陰性	—	—
A-92	411-424	Leu-Asn-Asp-Asn-Ala-Asn-Gly-Tyr-Phe-Ser-Gly-His-Val-Ile	陰性	—	—
A-93	415-428	Ala-Asn-Gly-Tyr-Phe-Ser-Gly-His-Val-Ile-Pro-Ala-Cys-Lys	陰性	—	—
A-94	419-432	Phe-Ser-Gly-His-Val-Ile-Pro-Ala-Cys-Lys-Asn-Leu-Ser-Pro	陰性	—	—
A-95	423-433	Val-Ile-Pro-Ala-Cys-Lys-Asn-Leu-Ser-Pro-Ser	陰性	—	—
B-1	1-14	Asp-Asn-Pro-Ile-Asp-Ser-Cys-Trp-Arg-Gly-Asp-Ser-Asn-Trp	陰性	—	—
B-2	5-18	Asp-Ser-Cys-Trp-Arg-Gly-Asp-Ser-Asn-Trp-Ala-Gln-Asn-Arg	陰性	—	—

【表4】

B-3	9-22	Arg-Gly-Asp-Ser-Asn-Trp-Ala-Gln-Asn-Arg-Met-Lys-Leu-Ala	陰性	−	
B-4	13-26	Asn-Trp-Ala-Gln-Asn-Arg-Met-Lys-Leu-Ala-Asp-Cys-Ala-Val	陰性	−	
B-5	17-30	Asn-Arg-Met-Lys-Leu-Ala-Asp-Cys-Ala-Val-Gly-Phe-Gly-Ser	陰性	−	
B-6	21-34	Leu-Ala-Asp-Cys-Ala-Val-Gly-Phe-Gly-Ser-Ser-Thr-Met-Gly	陰性	−	
B-7	25-38	Ala-Val-Gly-Phe-Gly-Ser-Ser-Thr-Met-Gly-Gly-Lys-Gly-Gly	陰性	−	
B-8	29-42	Gly-Ser-Ser-Thr-Met-Gly-Gly-Lys-Gly-Gly-Asp-Leu-Tyr-Thr	陰性	−	
B-9	33-46	Met-Gly-Gly-Lys-Gly-Gly-Asp-Leu-Tyr-Thr-Val-Thr-Asn-Ser	陰性	−	
B-10	37-50	Gly-Gly-Asp-Leu-Tyr-Thr-Val-Thr-Asn-Ser-Asp-Asp-Asp-Pro	陰性	−	
B-11	41-54	Tyr-Thr-Val-Thr-Asn-Ser-Asp-Asp-Pro-Val-Asn-Pro-Ala	陰性	−	
B-12	45-58	Asn-Ser-Asp-Asp-Asp-Pro-Val-Asn-Pro-Ala-Pro-Gly-Thr-Leu	陰性	−	
B-13	49-62	Asp-Pro-Val-Asn-Pro-Ala-Pro-Gly-Thr-Leu-Arg-Tyr-Gly-Ala	陰性	−	
B-14	53-66	Pro-Ala-Pro-Gly-Thr-Leu-Arg-Tyr-Gly-Ala-Thr-Arg-Asp-Arg	陰性	−	
B-15	57-70	Thr-Leu-Arg-Tyr-Gly-Ala-Thr-Arg-Asp-Arg-Pro-Leu-Trp-Ile	陰性	−	
B-16	61-74	Gly-Ala-Thr-Arg-Asp-Arg-Pro-Leu-Trp-Ile-Ile-Phe-Ser-Gly	陰性	−	
B-17	65-78	Asp-Arg-Pro-Leu-Trp-Ile-Ile-Phe-Ser-Gly-Asn-Met-Asn-Ile	陰性	−	
B-18	69-82	Trp-Ile-Ile-Phe-Ser-Gly-Asn-Met-Asn-Ile-Lys-Leu-Lys-Met	陰性	−	
B-19	73-86	Ser-Gly-Asn-Met-Asn-Ile-Lys-Leu-Lys-Met-Pro-Met-Tyr-Ile	陰性	−	
B-20	77-90	Asn-Ile-Lys-Leu-Lys-Met-Pro-Met-Tyr-Ile-Ala-Gly-Tyr-Lys	陰性	−	
B-21	81-94	Lys-Met-Pro-Met-Tyr-Ile-Ala-Gly-Tyr-Lys-Thr-Phe-Asp-Gly	陰性	−	
B-22	85-98	Tyr-Ile-Ala-Gly-Tyr-Lys-Thr-Phe-Asp-Gly-Arg-Gly-Ala-Gln	陰性	−	
B-23	89-102	Tyr-Lys-Thr-Phe-Asp-Gly-Arg-Gly-Ala-Gln-Val-Tyr-Ile-Gly	陰性	−	
B-24	93-106	Asp-Gly-Arg-Gly-Ala-Gln-Val-Tyr-Ile-Gly-Asn-Gly-Gly-Pro	陰性	−	
B-25	97-110	Ala-Gln-Val-Tyr-Ile-Gly-Asn-Gly-Gly-Pro-Cys-Val-Phe-Ile	陰性	−	
B-26	101-114	Ile-Gly-Asn-Gly-Gly-Pro-Cys-Val-Phe-Ile-Lys-Arg-Val-Ser	陰性	−	
B-27	105-118	Gly-Pro-Cys-Val-Phe-Ile-Lys-Arg-Val-Ser-Asn-Val-Ile-Ile	陰性	−	
B-28	109-122	Phe-Ile-Lys-Arg-Val-Ser-Asn-Val-Ile-Ile-His-Gly-Leu-Tyr	陰性	−	
B-29	113-126	Val-Ser-Asn-Val-Ile-Ile-His-Gly-Leu-Tyr-Leu-Tyr-Gly-Cys	陰性	−	
B-30	117-130	Ile-Ile-His-Gly-Leu-Tyr-Leu-Tyr-Gly-Cys-Ser-Thr-Ser-Val	陰性	−	
B-31	121-134	Leu-Tyr-Leu-Tyr-Gly-Cys-Ser-Thr-Ser-Val-Leu-Gly-Asn-Val	陰性	−	
B-32	125-138	Gly-Cys-Ser-Thr-Ser-Val-Leu-Gly-Asn-Val-Leu-Ile-Asn-Glu	陰性	−	
B-33	129-142	Ser-Val-Leu-Gly-Asn-Val-Leu-Ile-Asn-Glu-Ser-Phe-Gly-Val	陰性	−	
B-34	133-146	Asn-Val-Leu-Ile-Asn-Glu-Ser-Phe-Gly-Val-Glu-Pro-Val-His	陰性	−	
B-35	137-150	Asn-Glu-Ser-Phe-Gly-Val-Glu-Pro-Val-His-Pro-Gln-Asp-Gly	陰性	−	

【表5】

B-36	141-154	Gly-Val-Glu-Pro-Val-His-Pro-Gln-Asp-Gly-Asp-Ala-Leu-Thr	陰性	–
B-37	145-158	Val-His-Pro-Gln-Asp-Gly-Asp-Ala-Leu-Thr-Leu-Arg-Thr-Ala	陰性	–
B-38	149-162	Asp-Gly-Asp-Ala-Leu-Thr-Leu-Arg-Thr-Ala-Thr-Asn-Ile-Trp	陰性	–
B-39	153-166	Leu-Thr-Leu-Arg-Thr-Ala-Thr-Asn-Ile-Trp-Ile-Asp-His-Asn	陽性	0.074 (0.045)
B-40	157-170	Thr-Ala-Thr-Asn-Ile-Trp-Ile-Asp-His-Asn-Ser-Phe-Ser-Asn	陰性	–
B-41	161-174	Ile-Trp-Ile-Asp-His-Asn-Ser-Phe-Ser-Asn-Ser-Ser-Asp-Gly	陰性	–
B-42	165-178	His-Asn-Ser-Phe-Ser-Asn-Ser-Ser-Asp-Gly-Leu-Val-Asp-Val	陰性	–
B-43	169-182	Ser-Asn-Ser-Ser-Asp-Gly-Leu-Val-Asp-Val-Thr-Leu-Thr-Ser	陰性	–
B-44	173-186	Asp-Gly-Leu-Val-Asp-Val-Thr-Leu-Thr-Ser-Thr-Gly-Val-Thr	陰性	–
B-45	177-190	Asp-Val-Thr-Leu-Thr-Ser-Thr-Gly-Val-Thr-Ile-Ser-Asn-Asn	陰性	–
B-46	181-194	Thr-Ser-Thr-Gly-Val-Thr-Ile-Ser-Asn-Asn-Leu-Phe-Phe-Asn	陰性	–
B-47	185-198	Val-Thr-Ile-Ser-Asn-Asn-Leu-Phe-Phe-Asn-His-His-Lys-Val	陰性	–
B-48	189-202	Asn-Asn-Leu-Phe-Phe-Asn-His-His-Lys-Val-Met-Leu-Leu-Gly	陰性	–
B-49	193-206	Phe-Asn-His-His-Lys-Val-Met-Leu-Leu-Gly-His-Asp-Asp-Ala	陰性	–
B-50	197-210	Lys-Val-Met-Leu-Leu-Gly-His-Asp-Asp-Ala-Tyr-Ser-Asp-Asp	陰性	–
B-51	201-214	Leu-Gly-His-Asp-Asp-Ala-Tyr-Ser-Asp-Asp-Lys-Ser-Met-Lys	陰性	–
B-52	205-218	Asp-Ala-Tyr-Ser-Asp-Asp-Lys-Ser-Met-Lys-Val-Thr-Val-Ala	陰性	–
B-53	209-222	Asp-Asp-Lys-Ser-Met-Lys-Val-Thr-Val-Ala-Phe-Asn-Gln-Phe	陰性	–
B-54	213-226	Met-Lys-Val-Thr-Val-Ala-Phe-Asn-Gln-Phe-Gly-Pro-Asn-Cys	陰性	–
B-55	217-230	Val-Ala-Phe-Asn-Gln-Phe-Gly-Pro-Asn-Cys-Gly-Gln-Arg-Met	陰性	–
B-56	221-234	Gln-Phe-Gly-Pro-Asn-Cys-Gly-Gln-Arg-Met-Pro-Arg-Ala-Arg	陰性	–
B-57	225-238	Asn-Cys-Gly-Gln-Arg-Met-Pro-Arg-Ala-Arg-Tyr-Gly-Leu-Val	陰性	–
B-58	229-242	Arg-Met-Pro-Arg-Ala-Arg-Tyr-Gly-Leu-Val-His-Val-Ala-Asn	陰性	–
B-59	233-246	Ala-Arg-Tyr-Gly-Leu-Val-His-Val-Ala-Asn-Asn-Asn-Tyr-Asp	陰性	–
B-60	237-250	Leu-Val-His-Val-Ala-Asn-Asn-Asn-Tyr-Asp-Pro-Trp-Thr-Ile	陰性	–
B-61	241-254	Ala-Asn-Asn-Asn-Tyr-Asp-Pro-Trp-Thr-Ile-Tyr-Ala-Ile-Gly	陰性	–
B-62	245-258	Tyr-Asp-Pro-Trp-Thr-Ile-Tyr-Ala-Ile-Gly-Gly-Ser-Ser-Asn	陰性	–
B-63	249-262	Thr-Ile-Tyr-Ala-Ile-Gly-Gly-Ser-Ser-Asn-Pro-Thr-Ile-Leu	陰性	–
B-64	253-266	Ile-Gly-Gly-Ser-Ser-Asn-Pro-Thr-Ile-Leu-Ser-Glu-Gly-Asn	陰性	–
B-65	257-270	Ser-Asn-Pro-Thr-Ile-Leu-Ser-Glu-Gly-Asn-Ser-Phe-Thr-Ala	陰性	–
B-66	261-274	Ile-Leu-Ser-Glu-Gly-Asn-Ser-Phe-Thr-Ala-Pro-Asn-Glu-Ser	陰性	–
B-67	265-278	Gly-Asn-Ser-Phe-Thr-Ala-Pro-Asn-Glu-Ser-Tyr-Lys-Lys-Gln	陰性	–
B-68	269-282	Thr-Ala-Pro-Asn-Glu-Ser-Tyr-Lys-Lys-Gln-Val-Thr-Ile-Arg	陰性	–

【表6】

B-69	273-286	Glu-Ser-Tyr-Lys-Lys-Gln-Val-Thr-Ile-Arg-Ile-Gly-Cys-Lys	陰性	−
B-70	277-290	Lys-Gln-Val-Thr-Ile-Arg-Ile-Gly-Cys-Lys-Thr-Ser-Ser-Ser	陰性	−
B-71	281-294	Ile-Arg-Ile-Gly-Cys-Lys-Thr-Ser-Ser-Ser-Cys-Ser-Asn-Trp	陰性	−
B-72	285-298	Cys-Lys-Thr-Ser-Ser-Ser-Cys-Ser-Asn-Trp-Val-Trp-Gln-Ser	陰性	−
B-73	289-302	Ser-Ser-Cys-Ser-Asn-Trp-Val-Trp-Gln-Ser-Thr-Gln-Asp-Val	陰性	−
B-74	293-306	Asn-Trp-Val-Trp-Gln-Ser-Thr-Gln-Asp-Val-Phe-Tyr-Asn-Gly	陰性	−
B-75	297-310	Gln-Ser-Thr-Gln-Asp-Val-Phe-Tyr-Asn-Gly-Ala-Tyr-Phe-Val	陰性	−
B-76	301-314	Asp-Val-Phe-Tyr-Asn-Gly-Ala-Tyr-Phe-Val-Ser-Ser-Gly-Lys	陰性	−
B-77	305-318	Asn-Gly-Ala-Tyr-Phe-Val-Ser-Ser-Gly-Lys-Tyr-Glu-Gly-Gly	陰性	−
B-78	309-322	Phe-Val-Ser-Ser-Gly-Lys-Tyr-Glu-Gly-Gly-Asn-Ile-Tyr-Thr	陰性	−
B-79	313-326	Gly-Lys-Tyr-Glu-Gly-Gly-Asn-Ile-Tyr-Thr-Lys-Lys-Glu-Ala	陰性	−
B-80	317-330	Gly-Gly-Asn-Ile-Tyr-Thr-Lys-Lys-Glu-Ala-Phe-Asn-Val-Glu	陽性	0.077 (0.144)
B-81	321-334	Tyr-Thr-Lys-Lys-Glu-Ala-Phe-Asn-Val-Glu-Asn-Gly-Asn-Ala	陰性	−
B-82	325-338	Glu-Ala-Phe-Asn-Val-Glu-Asn-Gly-Asn-Ala-Thr-Pro-Gln-Leu	陰性	−
B-83	329-342	Val-Glu-Asn-Gly-Asn-Ala-Thr-Pro-Gln-Leu-Thr-Lys-Asn-Ala	陰性	−
B-84	333-346	Asn-Ala-Thr-Pro-Gln-Leu-Thr-Lys-Asn-Ala-Gly-Val-Leu-Thr	陰性	−
B-85	337-350	Gln-Leu-Thr-Lys-Asn-Ala-Gly-Val-Leu-Thr-Cys-Ser-Leu-Ser	陰性	−
B-86	340-353	Lys-Asn-Ala-Gly-Val-Leu-Thr-Cys-Ser-Leu-Ser-Lys-Arg-Cys	陰性	−
C-1	74-90	Lys-Val-Asp-Gly-Ile-Ile-Ala-Ala-Tyr-Gln-Asn-Pro-Ala-Ser-Trp-Lys-Asn	陽性	0.084 (0.053)
C-2	91-107	Asn-Arg-Ile-Trp-Leu-Gln-Phe-Ala-Lys-Leu-Thr-Gly-Phe-Thr-Leu-Met-Gly	陽性	0.089 (0.076)
C-3	192-208	Asp-Ile-Phe-Ala-Ser-Lys-Asn-Phe-His-Leu-Gln-Lys-Asn-Thr-Ile-Gly-Thr	陽性	0.071 (0.055)
C-4	352-368	Asp-Ile-Ser-Leu-Lys-Leu-Thr-Ser-Gly-Lys-Ile-Ala-Ser-Cys-Leu-Asn-Asp	陽性	0.081 (0.083)
ｱﾚﾙｹﾞﾝA	−	−	陽性	1.281 (0.051)
ｱﾚﾙｹﾞﾝB	−	−	陽性	0.818 (0.075)

註：括弧内の数値は、陰性対照におけるA492を示す。

【００３０】表１乃至６の結果は、試験に供したペプチド及びスギ花粉アレルゲンが、スギ花粉アレルゲンに特異的なＴ細胞に対して明らかに異なる挙動をしたことを示している。すなわち、試料Ａ－１９、Ａ－２０、Ａ－２３、Ａ－４８、Ａ－４９、Ａ－８９、Ｂ－３９、Ｂ－８０又はスギ花粉アレルゲンＡ若しくはＢを添加した系では、陰性対照と比較して、明らかに有意な^{3}Ｈ－チミジンの取込み促進が認められたのに対して、その余の試料を添加した系においては、有意な取込み促進が認められなかった。このことは、試料Ａ－１９、Ａ－２０、Ａ

－２３、Ａ－４８、Ａ－４９、Ａ－８９、Ｂ－３９、Ｂ－８０並びにスギ花粉アレルゲンＡ及びＢのみが、単核細胞群中のスギ花粉アレルゲンに特異的なＴ細胞を有意に活性化したことを意味している。

【００３１】さらに、アミノ酸配列が互いに重複する試料Ａ－１９、Ａ－２０、Ａ－４８及びＡ－４９並びにＴ細胞活性化作用が他の陽性試料に比べてやや低かった試料Ａ－２３及びＡ－８９につき、別途、１７個のアミノ酸残基からなる、配列表における配列番号８乃至１１に示すアミノ酸配列のペプチドを化学合成した。

【００３２】すなわち、ミリジェン／バイオリサーチ製ペプチド合成機『エクセル』を使用し、常法にしたがって、配列表における配列番号８乃至１１に示すアミノ酸配列のペプチド（試料Ｃ－１乃至Ｃ－４）を別々に合成し、バイオラド製クロマトグラフィーカラム『Ｈｉ－Ｐｏｒｅ　ＲＰ－３１８型』を使用する逆相高速液体クロマトグラフィーによりそれぞれ純度９５％まで精製した。精製後、試料Ｃ－１乃至Ｃ－４の一部をとり、パーキン・エルマー製ペプチドシーケンサ『４７０Ａ型』により分析したところ、合成に係る４種類のペプチドすべてが所期のアミノ酸配列を有していた。

【００３３】これら試料Ｃ－１乃至Ｃ－４につき、上記と同様に試験したところ、いずれも陽性であり、スギ花粉アレルゲンに特異的なＴ細胞を有意に活性化することが判明した。

【００３４】

【実験例２－２　スギ花粉アレルゲンに特異的なイムノグロブリンＥ抗体に対する反応性】実験例２－１においてスギ花粉アレルゲンに特異的なＴ細胞を有意に活性化することが明らかとなった試料Ｂ－３９、Ｂ－８０、Ｃ－１乃至Ｃ－４並びにアレルゲンＡ及びＢに、タニアイらが『モレキュラー・イムノロジー』、第３０巻、第２号、第１８３～１８９頁（１９９３年）に報告しているＥＩＡ法を適用し、スギ花粉症患者の血液から採取したスギ花粉アレルゲンに特異的なイムノグロブリンＥ抗体との反応性を調べた。

【００３５】すなわち、ピアス製架橋剤『（スルホスクシンイミジル）スベラート（ＢＳ，）』１ｇを蒸留水１０ｍｌに溶解し、ヌンク製『コバリンク型』９６ウェルマイクロプレートに５０μｌ／ウェルずつ分注し、３７℃で３時間インキュベートした。蒸留水でマイクロプレートを洗浄し、実験例１及び２で調製した試料Ｂ－３９、Ｂ－８０、Ｃ－１乃至Ｃ－４又はアレルゲンＡ若しくはＢを２０μｇ／ｍｌ又は５μｇ／ｍｌになるようにＰＢＳに溶解し、マイクロプレートに５０μｌ／ウェル分注し、３７℃でさらに３時間インキュベートしてマイクロプレートに共有結合させた。そして、マイクロプレートに１％（ｗ／ｖ）ウシ血清アルブミンを含むＰＢＳを５０μｌ／ウェル加え、４℃で一晩静置して未反応の活性基をブロックした後、０．１％（ｗ／ｖ）ウシ血清アルブミンを含むＰＢＳで洗浄し、ウシ血清アルブミンを同量含む新鮮なＰＢＳで５倍希釈したスギ花粉症患者の血清を５０μｌ／ウェル加え、３７℃で１時間反応させた。

【００３６】次に、マイクロプレートを０．１％（ｗ／ｖ）ウシ血清アルブミンを含むＰＢＳで洗浄し、ウシ血清アルブミンを同量含む新鮮なＰＢＳで１μｇ／ｍｌに希釈したキルケガード・アンド・ペリー製ビオチン標識抗ヒトε鎖抗体を５０μｌ／ウェルずつ加え、３７℃で１時間インキュベートした後、０．１％（ｗ／ｖ）ウシ血清アルブミンを含むＰＢＳで再度洗浄後、ウシ血清アルブミンを同量含む新鮮なＰＢＳで５，０００倍に希釈したザイメッド製パーオキシダーゼ標識アビジンを５０μｌ／ウェル加え、３７℃でさらに１時間インキュベートした。そして、マイクロプレートを０．１％（ｗ／ｖ）ウシ血清アルブミンを含むＰＢＳで洗浄後、過酸化水素を０．０３％（ｖ／ｖ）とオルトフェニレンジアミンを０．５ｍｇ／ｍｌ含む０．１Ｍクエン酸－燐酸緩衝液（ｐＨ５．０）を１００μｌ／ウェル加え、室温下で５分間静置して酵素反応させた。２Ｎ硫酸を１００μｌ／ウェルずつ加えて反応を停止させた後、分光光度計を使用する公知の方法で４９２ｎｍの波長下における吸光度を測定した。

【００３７】同時に、スギ花粉患者の血清に代えて健常者の血清を使用する系を設け、同様に処置して陰性対照とした。結果を表１乃至６に示す。

【００３８】表１乃至６に示す結果から明らかなように、アレルゲンＡ及びＢがスギ花粉症患者由来のスギ花粉アレルゲンに特異的なイムノグロブリンＥ抗体に強く反応したのに対して、試料Ｂ－３９、Ｂ－８０及びＣ－１乃至Ｃ－４は実質的に反応しなかった。このことは、これら試料がアレルゲンＡ及びＢに含まれるスギ花粉アレルゲンのＢ細胞エピトープを欠いていることを意味している。これらの結果と実験例２－１の結果を総合的に判断すると、上記試料、すなわち、配列表における配列番号８乃至１３に示すアミノ酸配列のペプチドは、本質的にスギ花粉アレルゲンのＴ細胞エピトープからなるものであると判断される。

【００３９】

【実験例３　Ｔ細胞がＴ細胞エピトープを認識するために不可欠なアミノ酸配列の検索】本実験例では、実験例２で明らかにした６種類のＴ細胞エピトープをさらに解析し、Ｔ細胞がそれらを認識するために不可欠なアミノ酸配列を検索した。

【００４０】すなわち、実験例１－１の方法により、配列表における配列番号８乃至１３に示すアミノ酸配列並びに表５乃至６において陽性を否定し切れなかった試料Ｂ－３８、Ｂ－８１及びＢ－８２のアミノ酸配列につき、それらの一端又は両端のアミノ酸の１個又は２個以上をアラニンで置換したアミノ酸１４個又は１７個から

なる種々のペプチドを化学合成した。そして、それらペプチドにつき、実験例2の方法により、スギ花粉アレルゲンに特異的なT細胞の活性化とスギ花粉アレルゲンに特異的なイムノグロブリンE抗体に対する反応性を調べた。

【0041】その結果、表7に示すように、配列表の配列番号1乃至7に示すアミノ酸配列を含んでなる試料D－1乃至D－7のペプチドは、スギ花粉アレルゲンに特異的なT細胞及びスギ花粉アレルゲンに特異的なイムノグロブリンE抗体に対して配列番号8乃至13に示すアミノ酸配列のペプチドとほぼ同様の挙動を示すことが判明した。このことは、配列表の配列番号1乃至7に示すアミノ酸配列は、T細胞が配列番号8乃至13に示すアミノ酸配列のペプチドを認識するために不可欠な配列であることを強く示唆している。

【0042】

【表7】

試料	アミノ酸配列	T細胞の活性化	ヒトイムノグロブリンE抗体に対する反応性 (A492)
D-1	Lys-Val-Asp-Gly-Ile-Ile-Ala-Ala-Tyr-Gln-Asn-Ala-Ala-Ala-Ala-Ala	陽性	0.079 (0.092)
D-2	Ala-Ala-Ala-Ala-Ile-Ile-Ala-Ala-Tyr-Gln-Asn-Pro-Ala-Ser-Ala-Ala-Ala	陽性	0.082 (0.063)
D-3	Asn-Arg-Ile-Trp-Leu-Gln-Phe-Ala-Lys-Leu-Ala-Ala-Ala-Ala-Ala-Ala-Ala	陽性	0.091 (0.059)
D-4	Ala-Ala-Phe-Ala-Ser-Lys-Asn-Phe-His-Leu-Gln-Lys-Ala-Ala-Ala-Ala-Ala	陽性	0.085 (0.071)
D-5	Ala-Ala-Ser-Leu-Lys-Leu-Thr-Ser-Gly-Lys-Ile-Ala-Ser-Ala-Ala-Ala-Ala	陽性	0.088 (0.089)
D-6	Leu-Thr-Leu-Arg-Thr-Ala-Thr-Asn-Ala-Ala-Ala-Ala-Ala-Ala	陽性	0.076 (0.069)
D-7	Ala-Ala-Ala-Ala-Ala-Ala-Ala-Ala-Ala-Phe-Asn-Val-Glu	陽性	0.089 (0.076)

【0043】以上説明したように、この発明は、スギ花粉アレルゲンに特異的なイムノグロブリンE抗体に実質的に反応せず、^{3}H－チミジンの取込みにより判定する方法により試験すると、陰性対照と比較して、スギ花粉アレルゲンに特異的なT細胞を有意に活性化するペプチドに関するものである。この発明は、ペプチドが斯かる性質を具備するかぎり、その構造、出所・由来、調製方法に係わりなく、すべて包含するものとする。

【0044】この発明のペプチドは、通常、5乃至50

個、望ましくは、１０乃至２０個のアミノ酸がペプチド結合してなる。個々のペプチドとしては、例えば、配列表における配列番号８乃至１３に示すアミノ酸配列を有するものと、それらアミノ配列に相同的なアミノ酸配列を有するものが挙げられる。相同的なアミノ酸配列のペプチドは、上記の免疫学的作用を実質的に変えることなく、配列表における配列番号８乃至１３に示すアミノ酸配列におけるアミノ酸の１個又は２個以上を他のアミノ酸で置換するか、それらアミノ酸配列の一端又は両端に適宜のアミノ酸を１個又は２個以上結合させることにより得ることができる。

【００４５】具体的には、例えば、配列表の配列番号８乃至１３に示すアミノ酸配列において、Ｔ細胞がそれらを認識するために不可欠なアミノ酸配列のみを不変とし、それ以外のアミノ酸については、スギ花粉のＴ細胞エピトープとしての免疫学的作用を実質的に変えない範囲で他のアミノ酸により置換する。あるいは、その不可欠なアミノ酸配列の一端又は両端に、必要に応じて、例えば、アラニンなどの適宜アミノ酸を１個又は２個以上結合させ、得られるペプチドが全体としてＴ細胞の認識し得る長さ、すなわち、通常、アミノ酸残基数にして１０乃至２０個になるようにする。斯かるアミノ酸配列としては、例えば、配列表における配列番号１乃至７に示すアミノ酸配列が挙げられ、また、斯かる相同体の例として、例えば、配列表における配列番号１６乃至２４に示すアミノ酸配列のペプチドを挙げることができる。

【００４６】この発明のペプチドは、「固相法」又は「液相法」として知られる斯界において慣用のペプチド合成法により、容易に調製することができる。この発明はペプチド合成そのものに係わるものではないので、詳しい説明は省略するが、例えば、社団法人日本生化学会編『新生化学実験講座』、第１巻、「タンパク質ＶＩ」、第３～４４頁、１９９２年、東京化学同人発行などにはペプチド合成の詳細が記載されている。ただし、この発明のペプチドは化学合成により調製されたものに限定されず、例えば、スギの花粉又は雄花から採取するか、組換えＤＮＡ技術により調製したスギ花粉アレルゲンを適宜分解し、分解物から採取したものであってもよい。あるいは、例えば、配列表における配列番号８乃至１３に示すアミノ酸配列又はそれらに相同的なアミノ酸配列を有するペプチドをコードするＤＮＡを調製し、これを自律複製可能なベクターに挿入して組換えＤＮＡとし、これを大腸菌、枯草菌、放線菌、酵母などの適宜宿主に導入して形質転換体とし、その培養物からこの発明のペプチドを採取してもよい。配列表における配列番号８乃至１３に示すアミノ酸配列のペプチドをコードするＤＮＡは、例えば、特願平５－３４４５９６号明細書や国際特許公開第９３／０１２１３号明細書に記載されたｃＤＮＡの塩基配列に基づいて調製することができる。さらに、この発明のペプチドは、斯くして得られるペプチドに糖質やポリエチレングリコールを付加して得られる複合体としての形態、さらには、ペプチドをアセチル化、アミド化及び／又は多官能試薬により架橋重合させて得られる誘導体又は重合体としての形態であってもよい。

【００４７】この発明のペプチドは、比較的粗な形態で投与しても所期の治療・予防効果を発揮するが、通常は使用に先立って精製される。精製には、例えば、濾過、濃縮、遠心分離、ゲル濾過クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグフラフィー、高速液体クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー、ゲル電気泳動、等電点電気泳動などのペプチド乃至蛋白質を精製するための斯界における慣用の方法が用いられ、必要に応じて、これら方法を適宜組合せればよい。そして、最終使用形態に応じて、精製したペプチドを濃縮・凍結乾燥して液状又は固状にすればよい。

【００４８】前述のとおり、この発明のペプチドは、スギ花粉アレルゲンに特異的なイムノグロブリンＥ抗体に実質的に反応せず、しかも、スギ花粉アレルゲンに特異的なＴ細胞を有意に活性化するので、スギ花粉症を治療・予防するための免疫療法剤として広範な用途を有する。有効成分としてこの発明のペプチドを含んでなる免疫療法剤は、スギ花粉症に罹患したヒトを含む哺乳類一般に投与すると、アナフィラキシーなどの副作用を実質的に引起こすことなく、スギ花粉症を治療することができる。一方、この発明の免疫療法剤を、スギ花粉が飛散し始める前に健常な個体や潜在的なスギ花粉症の個体に投与するときには、スギ花粉症に対して顕著な予防効果を発揮するとともに、発症時のアレルギー症状の緩解に著効を発揮する。

【００４９】この発明の免疫療法剤につきさらに詳しく説明すると、この発明の免疫療法剤は、通常、この発明によるペプチドの１種又は２種以上を０．０１乃至１００％（ｗ／ｗ）、望ましくは、０．０５乃至５０％（ｗ／ｗ）、さらに望ましくは、０．５乃至５．０％（ｗ／ｗ）含んでなる。この発明の免疫療法剤は、当該ペプチド単独の形態はもとより、それ以外の生理的に許容される、例えば、血清アルブミン、ゼラチン、マンニトール、マルトース、トレハロースなどの担体、賦形剤、免疫助成剤、安定剤、さらには、必要に応じて、ステロイドホルモンやクリモグリク酸ナトリウムなどの抗炎症剤や抗ヒスタミン剤を含む１種又は２種以上の他の薬剤との組成物としての形態を包含する。さらに、この発明の免疫療法剤は、投薬単位形態の薬剤をも包含し、その投薬単位形態の薬剤とは、この発明のポリペプチドを、例えば、１日当たりの用量又はその整数倍（４倍まで）又はその約数（１／４０まで）に相当する量を含有し、投与に適する物理的に分離した一体の剤型にある薬剤を意味する。このような投薬単位形態の薬剤としては、散剤、細粒剤、顆粒剤、丸剤、錠剤、カプセル剤、トロー

チ剤、シロップ剤、乳剤、軟膏剤、硬膏剤、パップ剤、坐剤、点眼剤、点鼻剤、噴霧剤、注射剤などが挙げられる。

【００５０】この発明の免疫療法剤の使用方法について説明すると、この発明の免疫療法剤は、スギ花粉症の治療・予防を目的に、ヒトを含む哺乳類一般に経皮、経口、点鼻、点眼又は注射投与される。ヒトにおける投与量は、投与の目的や症状に依っても変わるが、通常、対象者の症状や投与後の経過を観察しながら、成人１日当たり０．０１乃至１．０ｇ、望ましくは、０．０１乃至０．１ｇを目安に、毎週１回乃至毎月１回の頻度で、約１乃至６カ月間、通常、用量を増やしながら反復投与される。

【００５１】以下、この発明によるペプチドの調製と用途につき、２～３の実施例を挙げて説明する。

【００５２】

【実施例Ａ－１　ペプチドの調製】ミリジェン／バイオリサーチ製ペプチド合成機「エクセル」を使用し、常法にしたがって、配列表における配列番号８乃至１１に示すアミノ酸配列のペプチドを別々に合成し、バイオラド製クロマトグラフィーカラム「Ｈｉ－Ｐｏｒｅ　ＲＰ－３１８型」を使用する逆相高速液体クロマトグラフィーによりそれぞれ純度９５％まで精製後、凍結乾燥して固状物とした。固状物の一部をとり、バーキン・エルマー製ペプチドシーケンサ「４７０Ａ型」により分析したところ、合成に係る４種類のペプチドすべてが所期のアミノ酸配列を有していた。

【００５３】

【実施例Ａ－２　ペプチドの調製】ケンブリッジ・リサーチ・バイオケミカルズ製ペプチド合成キット「マルチピン」を使用し、常法にしたがって、配列表における配列番号１２及び１３に示すアミノ酸配列のペプチドを別々に化学合成し、実施例Ａ－１と同様にしてそれぞれ純度９５％まで精製後、凍結乾燥して固状物とした。固状物の一部をとり、実施例Ａ－１と同様に分析したところ、いずれも所期のアミノ酸配列を有していた。

【００５４】

【実施例Ａ－３　ペプチドの調製】実施例Ａ－１と同様にして、配列表における配列番号１６に示すアミノ酸配列のペプチドを化学合成し、純度９５％まで精製した。精製後、ペプチドの一部をとり、実施例Ａ－１と同様に分析したところ、所期のアミノ酸配列を有していた。

【００５５】

【実施例Ａ－４　ペプチドの調製】実施例Ａ－２と同様にして、配列表における配列番号１７に示すアミノ酸配列のペプチドを化学合成し、純度９５％まで精製した。精製後、ペプチドの一部をとり、実施例Ａ－１と同様に分析したところ、所期のアミノ酸配列を有していた。

【００５６】

【実施例Ａ－５　ペプチドの調製】実施例Ａ－１乃至Ａ－２と同様にして、実験例３の試料Ｄ－１乃至Ｄ－７に相当する配列表における配列番号１８乃至２４に示すアミノ酸配列のペプチドを化学合成し、それぞれ純度９５％まで精製後、凍結乾燥して固状物とした。固状物の一部をとり、バーキン・エルマー製ペプチドシーケンサ「４７０型」により分析したところ、合成に係る７種類のペプチドすべてが所期のアミノ酸配列を有していた。

【００５７】

【実施例Ｂ－１　液剤】実施例Ａ－１及びＡ－２の方法により得た６種類のペプチドのいずれかを最終濃度０．１ｇ／ｍｌになるように安定剤として１％（ｗ／ｖ）精製ゼラチンを含む蒸留水に溶解し、常法により滅菌濾過して６種類の液剤を得た。

【００５８】この発明のペプチドに対する感受性は、個体ごとに変わるのが通例であるから、本品は、個々の個体に最も適した組成になるよう、６種類の液剤を適宜配合して使用する。安定性に優れた本品は、スギ花粉症を治療・予防するための点眼剤、点鼻剤、口腔内噴霧剤用の液剤として有用である。

【００５９】

【実施例Ｂ－２　注射剤】安定剤として１％（ｗ／ｖ）ヒト血清アルブミンを含む生理食塩水に実施例Ａ－１及びＡ－２の方法により得た６種類のペプチドをそれぞれ最終濃度０．０１、０．１又は１ｍｇ／ｍｌになるように溶解し、滅菌濾過した後、滅菌バイアル瓶に２ｍｌずつ分注し、凍結乾燥し、密栓した。

【００６０】本品は、投与に先立ち、先ず、バイアル瓶内に注射用蒸留水等を１ｍｌ加え、次いで、内容物を均一に溶解して使用する。安定性に優れ、有効成分としてこの発明による６種類のポリペプチドを含んでなる本品は、スギ花粉症を治療・予防するための乾燥注射剤として有用である。

【００６１】

【実施例Ｂ－３　錠剤】平均分子量約２０，０００ダルトンの精製プルラン２ｇを蒸留水１００ｍｌに均一に溶解し、溶液に塩化シアヌルの１．７％（ｗ／ｖ）アセトン溶液を２ｍｌ加え、５％（ｗ／ｖ）炭酸ナトリウム水溶液でｐＨを７付近に保ちつつ、撹拌下、５℃で２時間反応させた。その後、同様にして反応物のｐＨを７付近に保ちながら、４℃の冷水に対して一晩透析し、活性化プルランを含む水溶液２０ｍｌを得た。

【００６２】この水溶液に実施例Ａ－１の方法により得た配列表における配列番号８、１０及び１１に示すアミノ酸配列のペプチドと、実施例Ａ－２の方法により得た配列表に配列番号１３に示すアミノ酸配列のペプチドと、実施例Ａ－３の方法により得たペプチドと、実施例Ａ－４の方法により得たペプチドをそれぞれ０．２ｍｇ加え、溶液のｐＨを７付近に保ちつつ、緩やかに撹拌しながら、３７℃で１２時間反応させた。反応後、反応物にグリシンを４ｇ加え、緩やかに撹拌しながら、３７℃

で５時間インキュベートし、未反応の活性基をブロックした。

【００６３】反応物を濃縮し、予め０．１Ｍ燐酸緩衝液（ｐＨ７．０）で平衡化させておいたセファデックスＧ－５０カラムに負荷し、カラムに新鮮な同一緩衝液を通液して、この発明のペプチドとプルランの複合体を含む画分を採取した。収量は、原料ペプチド固形分当たり、約３０％であった。

【００６４】常法にしたがって、この画分を滅菌濾過し、濃縮し、凍結乾燥し、粉砕後、マンニトールを均一に混合し、混合物を打錠して製品１錠（２００ｍｇ）当たり複合体を２、１０又は５０ｍｇ含む錠剤を得た。

【００６５】摂取性、安定性に優れた本品は、スギ花粉症を治療・予防するための舌下剤として有用である。

【００６６】

【実施例Ｂ－４　シロップ剤】大腸菌由来の精製リボ多糖１ｇを１０ｍＭ燐酸カルシウム水溶液１００ｍｌに溶解し、溶液に１００ｍＭ過沃素酸ナトリウムを６ｍｌ加え、室温下で２０分間反応させてリボ多糖を活性化した。反応物を４℃の１Ｍグリシン－塩酸緩衝液（ｐＨ４．４）に対して一晩透析して未反応の過沃素酸を除去した後、０．１Ｍ炭酸水素ナトリウム緩衝液によりｐＨ９．５付近に調整する一方、別途、実施例Ａ－１及びＡ－２の方法により得た６種類のペプチドを０．１Ｍ燐酸緩衝液（ｐＨ７．０）１００ｍｌにそれぞれ１０ｍｇずつ溶解し、活性化リボ多糖を含む上記反応物に加え、室温下で１２時間静置して反応させた。

【００６７】その後、新たに得られた反応物を実施例Ｂ－３の方法により精製し、得られたこの発明のペプチドとリボ多糖の複合体を含む画分を濃縮し、凍結乾燥し、粉砕して固状物とした。収量は、原料ペプチド固形分当たり、約３０％であった。

【００６８】この固状物と蔗糖をそれぞれ最終濃度が０．１若しくは１ｍｇ／ｍｌ又は５０％（ｗ／ｗ）になるように安定剤として精製ゼラチンを１％（ｗ／ｖ）含む蒸留水に溶解し、溶液を常法により滅菌濾過してシロップ状物を得た。このシロップ状物を２ｍｌずつ滅菌バイアル瓶に分注し、密栓して製品とした。

【００６９】安定性に優れ、有効成分としてこの発明のペプチドとリボ多糖の複合体を含む本品は、スギ花粉症を治療・予防するためのシロップ剤として有用である。

【００７０】

【実施例Ｂ－５　液剤】実施例Ａ－５の方法により得た７種類のペプチドのいずれかを最終濃度０．１ｇ／ｍｌになるように安定剤として１％（ｗ／ｖ）精製ゼラチンを含む蒸留水に溶解し、常法により滅菌濾過して７種類の液剤を得た。

【００７１】この発明のペプチドに対する感受性は、個体ごとに変わるのが通例であるから、本品は、個々の個体に最も適した組成になるよう、７種類の液剤を適宜配合して使用する。安定性に優れた本品は、スギ花粉症を治療・予防するための点眼剤、点鼻剤、口腔内噴霧剤用の液剤として有用である。

【００７２】

【実施例Ｂ－６　注射剤】安定剤として１％（ｗ／ｖ）ヒト血清アルブミンを含む生理食塩水に実施例Ａ－５の方法により得た７種類のペプチドをそれぞれ最終濃度０．０１、０．１又は１ｍｇ／ｍｌになるように溶解し、滅菌濾過した後、滅菌バイアル瓶に２ｍｌずつ分注し、凍結乾燥し、密栓した。

【００７３】本品は、投与に先立ち、先ず、バイアル瓶内に注射用蒸留水等を１ｍｌ加え、次いで、内容物を均一に溶解して使用する。安定性に優れ、有効成分としてこの発明による７種類のポリペプチドを含んでなる本品は、スギ花粉症を治療・予防するための乾燥注射剤として有用である。

【００７４】

【実施例Ｂ－７　シロップ剤】精製ゼラチンを１％（ｗ／ｖ）含む蒸留水に実施例Ａ－５の方法により得た７種類のペプチドをそれぞれ０．１ｍｇ／ｍｌと蔗糖を５０％（ｗ／ｖ）になるように溶解し、溶液を常法により滅菌濾過してシロップ状物を得た。このシロップ状物を２ｍｌずつ滅菌バイアル瓶に分注し、密栓して製品とした。

【００７５】安定性に優れ、有効成分としてこの発明のペプチドを含む本品は、スギ花粉症を治療・予防するためのシロップ剤として有用である。

【００７６】

【実験例４　急性毒性試験】常法により、生後２０日目のマウスに実施例Ｂ－１乃至Ｂ－７の方法により得た免疫療法剤を経口又は腹腔内投与した。その結果、これら免疫療法剤は、いずれの投与経路によっても２００ｍｇ／ｋｇ以上のＬＤ５０であることが判明した。このことは、この発明のペプチドが、ヒトを含む哺乳類に投与する免疫療法剤に安全に配合使用し得ることを示している。

【００７７】

【発明の効果】以上説明したように、この発明は、本質的にスギ花粉アレルゲンのＴ細胞エピトープからなるペプチドの発見に基づくものである。この発明のペプチドは、スギ花粉アレルゲンに特異的なイムノグロブリンＥ抗体に実質的に反応しないので、ヒトを含む哺乳類に投与すると、実質的にアナフィラキシーを引起こすことなく、スギ花粉アレルゲンに特異的なＴ細胞を活性化する。したがって、有効成分として斯かるペプチドを含んでなるこの発明の免疫療法剤は、ヒトを含む哺乳類に投与すると、副作用少なく、短期間でスギ花粉症に対して顕著な治療・予防効果を発揮する。しかも、この発明のペプチドは、所望量を容易に製造でき、品質管理も容易なことから、スギ花粉症の治療・予防にきわめて安全に

使用できるものである。

【００７８】斯くも顕著な作用効果を発揮するこの発明は、斯界に貢献すること誠に多大な、意義のある発明と云える。

【００７９】

【配列表】

配列番号：1
配列の長さ：11
配列の型：アミノ酸
トポロジー：直鎖状
配列の種類：ペプチド
配列
Lys Val Asp Gly Ile Ile Ala Ala Tyr Gln Asn
1 5 10

【００８０】配列番号：2
配列の長さ：10
配列の型：アミノ酸
トポロジー：直鎖状
配列の種類：ペプチド
配列
Ile Ile Ala Ala Tyr Gln Asn Pro Ala Ser
1 5 10

【００８１】配列番号：3
配列の長さ：10
配列の型：アミノ酸
トポロジー：直鎖状
配列の種類：ペプチド
配列
Asn Arg Ile Trp Leu Gln Phe Ala Lys Leu
1 5 10

【００８２】配列番号：4
配列の長さ：10
配列の型：アミノ酸
トポロジー：直鎖状
＊配列の種類：ペプチド
配列
Phe Ala Ser Lys Asn Phe His Leu Gln Lys
1 5 10

【００８３】配列番号：5
配列の長さ：11
配列の型：アミノ酸
トポロジー：直鎖状
配列の種類：ペプチド
配列
Ser Leu Lys Leu Thr Ser Gly Lys Ile Ala Ser
1 5 10

【００８４】配列番号：6
配列の長さ：8
配列の型：アミノ酸
トポロジー：直鎖状
配列の種類：ペプチド
配列
Leu Thr Leu Arg Thr Ala Thr Asn
1 5

【００８５】配列番号：7
配列の長さ：5
配列の型：アミノ酸
トポロジー：直鎖状
配列の種類：ペプチド
配列
Ala Phe Asn Val Glu
1 5

【００８６】配列番号：8
配列の長さ：17
配列の型：アミノ酸
トポロジー：直鎖状
配列の種類：ペプチド
＊
配列
Lys Val Asp Gly Ile Ile Ala Ala Tyr Gln Asn Pro Ala Ser Trp Lys Asn
1 5 10 15

【００８７】配列番号：9
配列の長さ：17
配列の型：アミノ酸
※トポロジー：直鎖状
配列の種類：ペプチド
※
配列
Asn Arg Ile Trp Leu Gln Phe Ala Lys Leu Thr Gly Phe Thr Leu Met Gly
1 5 10 15

【００８８】配列番号：10
配列の長さ：17
配列の型：アミノ酸
★トポロジー：直鎖状
配列の種類：ペプチド
★
配列
Asp Ile Phe Ala Ser Lys Asn Phe His Leu Gln Lys Asn Thr Ile Gly Thr
1 5 10 15

【００８９】配列番号：11
配列の長さ：17

配列の型：アミノ酸　＊配列の種類：ペプチド
トポロジー：直鎖状　＊

配列

Asp Ile Ser Leu Lys Leu Thr Ser Gly Lys Ile Ala Ser Cys Leu Asn Asp
1 5 10 15

【００９０】配列番号：12　※トポロジー：直鎖状
配列の長さ：14　配列の種類：ペプチド
配列の型：アミノ酸　※

配列

Leu Thr Leu Arg Thr Ala Thr Asn Ile Trp Ile Asp His Asn
1 5 10

【００９１】配列番号：13　★トポロジー：直鎖状
配列の長さ：14　配列の種類：ペプチド
配列の型：アミノ酸　★

配列

Gly Gly Asn Ile Tyr Thr Lys Lys Glu Ala Phe Asn Val Glu
1 5 10

【００９２】配列番号：14　☆配列の種類：蛋白質
配列の長さ：514　起源
配列の型：アミノ酸　20 生物名：Cryptomeria japonica
トポロジー：直鎖状　☆ 個体・単離生物名：スギ

配列

Met Ala Met Lys Phe Ile Ala Pro Met Ala Phe Val Ala Met Gln Leu Ile
1 5 10 15
Ile Met Ala Ala Ala Glu Asp Gln Ser Ala Gln Ile Met Leu Asp Ser Asp
20 25 30
Ile Glu Gln Tyr Leu Arg Ser Asn Arg Ser Leu Arg Lys Val Glu His Ser
35 40 45 50
Arg His Asp Ala Ile Asn Ile Phe Asn Val Glu Lys Tyr Gly Ala Val Gly
55 60 65
Asp Gly Lys His Asp Cys Thr Glu Ala Phe Ser Thr Ala Trp Gln Ala Ala
70 75 80 85
Cys Lys Lys Pro Ser Ala Met Leu Leu Val Pro Gly Asn Lys Lys Phe Val
90 95 100
Val Asn Asn Leu Phe Phe Asn Gly Pro Cys Gln Pro His Phe Thr Phe Lys
105 110 115
Val Asp Gly Ile Ile Ala Ala Tyr Gln Asn Pro Ala Ser Trp Lys Asn Asn
120 125 130 135
Arg Ile Trp Leu Gln Phe Ala Lys Leu Thr Gly Phe Thr Leu Met Gly Lys
140 145 150
Gly Val Ile Asp Gly Gln Gly Lys Gln Trp Trp Ala Gly Gln Cys Lys Trp
155 160 165 170
Val Asn Gly Arg Glu Ile Cys Asn Asp Arg Asp Arg Pro Thr Ala Ile Lys
175 180 185
Phe Asp Phe Ser Thr Gly Leu Ile Ile Gln Gly Leu Lys Leu Met Asn Ser
190 195 200
Pro Glu Phe His Leu Val Phe Gly Asn Cys Glu Gly Val Lys Ile Ile Gly
205 210 215 220
Ile Ser Ile Thr Ala Pro Arg Asp Ser Pro Asn Thr Asp Gly Ile Asp Ile
225 230 235

33 34
Phe Ala Ser Lys Asn Phe His Leu Gln Lys Asn Thr Ile Gly Thr Gly Asp
240 245 250 255
Asp Cys Val Ala Ile Gly Thr Gly Ser Ser Asn Ile Val Ile Glu Asp Leu
260 265 270
Ile Cys Gly Pro Gly His Gly Ile Ser Ile Gly Ser Leu Gly Arg Glu Asn
275 280 285
Ser Arg Ala Glu Val Ser Tyr Val His Val Asn Gly Ala Lys Phe Ile Asp
290 295 300 305
Thr Gln Asn Gly Leu Arg Ile Lys Thr Trp Gln Gly Gly Ser Gly Met Ala
310 315 320
Ser His Ile Ile Tyr Glu Asn Val Glu Met Ile Asn Ser Glu Asn Pro Ile
325 330 335 340
Leu Ile Asn Gln Phe Tyr Cys Thr Ser Ala Ser Ala Cys Gln Asn Gln Arg
345 350 355
Ser Ala Val Gln Ile Gln Asp Val Thr Tyr Lys Asn Ile Arg Gly Thr Ser
360 365 370
Ala Thr Ala Ala Ala Ile Gln Leu Lys Cys Ser Asp Ser Met Pro Cys Lys
375 380 385 390
Asp Ile Lys Leu Ser Asp Ile Ser Leu Lys Leu Thr Ser Gly Lys Ile Ala
395 400 405
Ser Cys Leu Asn Asp Asn Ala Asn Gly Tyr Phe Ser Gly His Val Ile Pro
410 415 420 425
Ala Cys Lys Asn Leu Ser Pro Ser Ala Lys Arg Lys Glu Ser Lys Ser His
430 435 440
Lys His Pro Lys Thr Val Met Val Lys Asn Met Gly Ala Tyr Asp Lys Gly
445 450 455
Asn Arg Thr Arg Ile Leu Leu Gly Ser Arg Pro Pro Asn Cys Thr Asn Lys
460 465 470 475
Cys His Gly Cys Ser Pro Cys Lys Ala Lys Leu Val Ile Val His Arg Ile
480 485 490
Met Pro Gln Glu Tyr Tyr Pro Gln Arg Trp Met Cys Ser Arg His Ala Lys
495 500 505 510
Ile Tyr His Pro

【００９３】配列番号：15
配列の長さ：353
配列の型：アミノ酸
トポロジー：直鎖状
＊配列の種類：蛋白質
起源
生物名：Cryptomeria japonica
＊ 個体・単離生物名：スギ

配列

Asp Asn Pro Ile Asp Ser Cys Trp Arg Gly Asp Ser Asn Trp Ala Gln Asn
1 5 10 15
Arg Met Lys Leu Ala Asp Cys Ala Val Gly Phe Gly Ser Ser Thr Met Gly
20 25 30
Gly Lys Gly Gly Asp Leu Tyr Thr Val Thr Asn Ser Asp Asp Asp Pro Val
35 40 45 50
Asn Pro Ala Pro Gly Thr Leu Arg Tyr Gly Ala Thr Arg Asp Arg Pro Leu
55 60 65
Trp Ile Ile Phe Ser Gly Asn Met Asn Ile Lys Leu Lys Met Pro Met Tyr
70 75 80 85
Ile Ala Gly Tyr Lys Thr Phe Asp Gly Arg Gly Ala Gln Val Tyr Ile Gly
90 95 100

35 36
Asn Gly Gly Pro Cys Val Phe Ile Lys Arg Val Ser Asn Val Ile Ile His
105 110 115
Gly Leu Tyr Leu Tyr Gly Cys Ser Thr Ser Val Leu Gly Asn Val Leu Ile
120 125 130 135
Asn Glu Ser Phe Gly Val Glu Pro Val His Pro Gln Asp Gly Asp Ala Leu
140 145 150
Thr Leu Arg Thr Ala Thr Asn Ile Trp Ile Asp His Asn Ser Phe Ser Asn
155 160 165 170
Ser Ser Asp Gly Leu Val Asp Val Thr Leu Thr Ser Thr Gly Val Thr Ile
175 180 185
Ser Asn Asn Leu Phe Phe Asn His His Lys Val Met Leu Leu Gly His Asp
190 195 200
Asp Ala Tyr Ser Asp Asp Lys Ser Met Lys Val Thr Val Ala Phe Asn Gln
205 210 215 220
Phe Gly Pro Asn Cys Gly Gln Arg Met Pro Arg Ala Arg Tyr Gly Leu Val
225 230 235
His Val Ala Asn Asn Asn Tyr Asp Pro Trp Thr Ile Tyr Ala Ile Gly Gly
240 245 250 255
Ser Ser Asn Pro Thr Ile Leu Ser Glu Gly Asn Ser Phe Thr Ala Pro Asn
260 265 270
Glu Ser Tyr Lys Lys Gln Val Thr Ile Arg Ile Gly Cys Lys Thr Ser Ser
275 280 285
Ser Cys Ser Asn Trp Val Trp Gln Ser Thr Gln Asp Val Phe Tyr Asn Gly
290 295 300 305
Ala Tyr Phe Val Ser Ser Gly Lys Tyr Glu Gly Gly Asn Ile Tyr Thr Lys
310 315 320
Lys Glu Ala Phe Asn Val Glu Asn Gly Asn Ala Thr Pro Gln Leu Thr Lys
325 330 335 340
Asn Ala Gly Val Leu Thr Cys Ser Leu Ser Lys Arg Cys
345 350

【００９４】配列番号：16 ＊トポロジー：直鎖状
配列の長さ：17 配列の種類：ペプチド
配列の型：アミノ酸 ＊
配列
Asn Arg Ile Trp Leu Gln Phe Ala Lys Leu Gln Gly Phe Thr Leu Met Gly
1 5 10 15

【００９５】配列番号：17 ※トポロジー：直鎖状
配列の長さ：14 配列の種類：ペプチド
配列の型：アミノ酸 ※
配列
Leu Ala Leu Arg Thr Ala Thr Asn Ile Trp Ile Asp His Asn
1 5 10

【００９６】配列番号：18 ★トポロジー：直鎖状
配列の長さ：17 配列の種類：ペプチド
配列の型：アミノ酸 ★
配列
Lys Val Asp Gly Ile Ile Ala Ala Tyr Gln Asn Ala Ala Ala Ala Ala Ala
1 5 10 15

【００９７】配列番号：19 配列の型：アミノ酸
配列の長さ：17 トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

配列

Ala Ala Ala Ala Ile Ile Ala Ala Tyr Gln Asn Pro Ala Ser Ala Ala Ala
1 5 10 15

【００９８】配列番号：20 ＊トポロジー：直鎖状
配列の長さ：17 配列の種類：ペプチド
配列の型：アミノ酸 ＊

配列

Asn Arg Ile Trp Leu Gln Phe Ala Lys Leu Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
1 5 10 15

【００９９】配列番号：21 ※トポロジー：直鎖状
配列の長さ：17 配列の種類：ペプチド
配列の型：アミノ酸 ※

配列

Ala Ala Phe Ala Ser Lys Asn Phe His Leu Gln Lys Ala Ala Ala Ala Ala
1 5 10 15

【０１００】配列番号：22 ★トポロジー：直鎖状
配列の長さ：17 配列の種類：ペプチド
配列の型：アミノ酸 ★

配列

Ala Ala Ser Leu Lys Leu Thr Ser Gly Lys Ile Ala Ser Ala Ala Ala Ala
1 5 10 15

【０１０１】配列番号：23 ☆トポロジー：直鎖状
配列の長さ：14 配列の種類：ペプチド
配列の型：アミノ酸 ☆

配列

Leu Thr Leu Arg Thr Ala Thr Asn Ala Ala Ala Ala Ala Ala
1 5 10

【０１０２】配列番号：24 ◆トポロジー：直鎖状
配列の長さ：14 配列の種類：ペプチド
配列の型：アミノ酸 ◆

配列

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Phe Asn Val Glu
1 5 10

フロントページの続き

(51)Int.Cl.[6]		識別記号	庁内整理番号	FI	技術表示箇所
A61K	39/36	ABF			
	47/42		J		
			B		
C07K	7/08	ZNA	8318－4H		
	14/415		8318－4H		

【公報種別】特許法第１７条の２の規定による補正の掲載
【部門区分】第３部門第２区分
【発行日】平成１４年１月１５日（２００２．１．１５）

【公開番号】特開平８－１２７５９１
【公開日】平成８年５月２１日（１９９６．５．２１）
【年通号数】公開特許公報８－１２７６
【出願番号】特願平７－２００２２１
【国際特許分類第７版】
C07K 7/06
A61K 38/00 ABC
AED
39/36 ABF
47/42

C07K 7/08 ZNA
14/415
【ＦＩ】
C07K 7/06
A61K 39/36 ABF
47/42 J
B
C07K 7/08 ZNA
14/415
A61K 37/02 ABC
AED

【手続補正書】
【提出日】平成１３年９月５日（２００１．９．５）
【手続補正１】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００１６
【補正方法】変更
【補正内容】
【００１６】本発明者らは、長年に亙るスギ花粉アレルゲンに係わる研究の一成果として、昨年、スギ花粉アレルゲンの主たる１成分が配列表における配列番号１４に示すアミノ酸配列を有することを突止め、特願平５－３４４５９６号明細書（特開平７－１７０９８６号公報）に開示した。一方、国際特許公開第９３／０１２１３号明細書には、スギ花粉アレルゲンの別の１成分が、配列表における配列番号１５に示すアミノ酸配列を有すると開示されており、本発明者らも、平成６年４月１４乃至１６日に熊本県熊本市で開催された『第６回日本アレルギー学会春期臨床大会』において、同じアミノ酸配列を発表している。
【手続補正２】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００４６
【補正方法】変更
【補正内容】
【００４６】この発明のペプチドは、「固相法」又は「液相法」として知られる斯界において慣用のペプチド合成法により、容易に調製することができる。この発明はペプチド合成そのものに係わるものではないので、詳しい説明は省略するが、例えば、社団法人日本生化学会編『新生化学実験講座』、第１巻、「タンパク質ＶＩ」、第３～４４頁、１９９２年、東京化学同人発行などにはペプチド合成の詳細が記載されている。ただし、この発明のペプチドは化学合成により調製されたものに限定されず、例えば、スギの花粉又は雄花から採取するか、組換えＤＮＡ技術により調製したスギ花粉アレルゲンを適宜分解し、分解物から採取したものであってもよい。あるいは、例えば、配列表における配列番号８乃至１３に示すアミノ酸配列又はそれらに相同的なアミノ酸配列を有するペプチドをコードするＤＮＡを調製し、これを自律複製可能なベクターに挿入して組換えＤＮＡとし、これを大腸菌、枯草菌、放線菌、酵母などの適宜宿主に導入して形質転換体とし、その培養物からこの発明のペプチドを採取してもよい。配列表における配列番号８乃至１３に示すアミノ酸配列のペプチドをコードするＤＮＡは、例えば、特願平５－３４４５９６号明細書

（特開平７－１７０９８６号公報）や国際特許公開第９３／０１２１３号明細書に記載されたｃＤＮＡの塩基配列に基づいて調製することができる。さらに、この発明のペプチドは、斯くして得られるペプチドに糖質やポリエチレングリコールを付加して得られる複合体としての形態、さらには、ペプチドをアセチル化、アミド化及び／又は多官能試薬により架橋重合させて得られる誘導体又は重合体としての形態であってよい。

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 08-127591
(43)Date of publication of application : 21.05.1996

(51)Int.CI. C07K 7/06
A61K 38/00
A61K 38/00
A61K 39/36
A61K 47/42
C07K 7/08
C07K 14/415

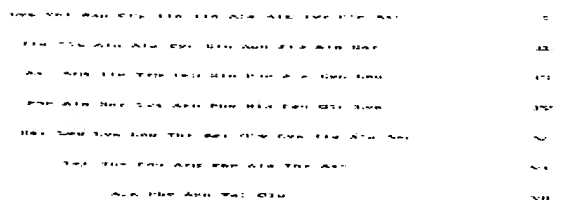
(21)Application number : 07-200221
(22)Date of filing : 14.07.1995

(71)Applicant : HAYASHIBARA BIOCHEM LAB INC
(72)Inventor : SAITO SABURO
HINO KATSUHIKO
TANIGUCHI YOSHIFUMI
KURIMOTO MASASHI

(30)Priority
Priority number : 06242137
Priority date : 10.09.1994
Priority country : JP

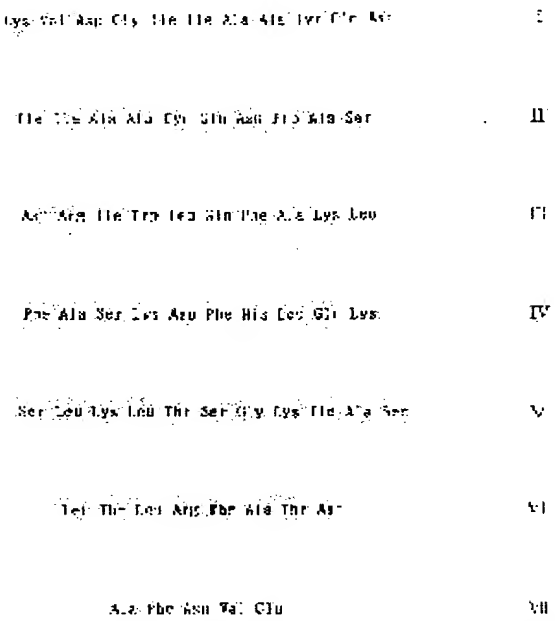
(54) PEPTIDE AND ITS USE

(57)Abstract:
PURPOSE: To obtain a peptide not reacting with IgE specific to cedar pollen allergen, capable of activating a



T cell specific to cedar pollen allergen by judging taking-in of 3H-thymidine and useful as an immunotherapeutic agent for treating cedar pollinosis, etc.

CONSTITUTION: This new peptide contains either one of amino acid sequences expressed by formulas I to VII and does not react with immunoglobulin E(IgE) antibody specific to cedar pollen allergen and significantly activates a T cell specific to cedar pollen allergen, compared with negative reference examination using a method to judge taking in of 3H-thymidine and exhibits remarkable treating and preventing effect on cedar pollen in a short period without almost giving adverse effect due to administering to Mammalia including Human as an active ingredient for immunotherapeutic agents. The peptide is obtained by extracting pollen collected from male flower of cedar by immersing it in 0.125M aqueous solution of sodium hydrogen carbonate and purifying the extracted solution by salting out using ammonium sulfate, treatments with anion exchanger and by gel filtration, etc., or by recombinant gene technique.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]	05.09.2001
[Date of sending the examiner's decision of rejection]	
[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]	
[Date of final disposal for application]	
[Patent number]	3588166
[Date of registration]	20.08.2004
[Number of appeal against examiner's decision of rejection]	
[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]	

[Date of extinction of right]

DETAILED DESCRIPTION

[Detailed Description of the Invention]
[0001]
[Field of the Invention] This invention relates to the immunotherapy agent which comes to contain a new peptide, the peptide which activates a specific T cell to that application, division, and cedar pollen allergen, and its peptide as an active principle.
[0002]
[Description of the Prior Art] If it has become at the beginning of spring in our country since here about ten years, the number of those who appeal against the rhinitis and the conjunctivitis by hay fever will continue increasing. Since it is called the beginning of spring when there being many patients and an event with various ****** continue, mass communications are also taken up frequently and, now, it has become one of the problems which cannot be disregarded on public health.
[0003] Hay fever is a kind of an allergy and it is said that the main factor is, the antigenic matter, i.e., the cedar pollen allergen, in cedar pollen. If the cedar pollen which dispersed in atmospheric air trespasses upon the human inside of the body, the immunoglobulin E antibody to cedar pollen allergen will produce. When cedar pollen invades next in this condition, the allergen and this immunoglobulin E antibody in that pollen will cause an immunoreaction, and will present an allergy symptom.
[0004] It is known that at least two kinds of allergen from which antigenic is different exists in current and cedar pollen. One of them is allergen which YASUEDA and others has reported to "journal OBU allergy - and - clinical immunology", the 71st volume, No. 1, and the 77-86th page (1983), and this is called "Cryj I" today. Another is TANIAI et al. "EFU I BI S Letters", the 239th volume, No. 2, the 329-332nd page (1988) and Sakaguchi "allergy" et al., No. 45, and allergen reported to the 309-312nd page (1990), and this is called "Cry j II" today. In cedar pollen, it is usually Cry. j I and Cry j Most blood serums

which II existed at a rate of about 50:1 thru/or 5:1, and extracted from the hay fever sufferer are Cry. It is Cry also to jI. j It is said that it reacts also to II. Sawatani and others -- "allergy", the 42nd volume, No. 6, and the 738-747th page (1993) -- setting -- Cryj II -- intracutaneous testing -- if a RAST trial is carried out -- Cry j It is reported that it demonstrates antigenic [comparable as I].

[0005] Thus, since cedar pollen allergen was already isolated partly and the property and description were also solved to some extent, the prospect which can treat and prevent hay fever followed by prescribing for the patient and carrying out hyposensitization of the purification cedar pollen allergen to Homo sapiens. Recently, it succeeds in the proposal with which carries out covalent bond of the sugar to the cedar pollen allergen as which some hyposensitization agents for it are also devised, for example, the amino acid sequence from an amino terminal is expressed in Asp-Asn-Pro-Ile-Asp-Ser or Ala-Ile-Asn-Ile-Phe-Asn to JP,1-156926,A or JP,3-93730,A, and Homo sapiens is medicated by making the generated complex into a hyposensitization agent. However, it is expected that great difficulty will follow on a diagnosis and desensitization therapy of an allergy if the allergen in cedar pollen has low stability to a small top and tends to provide the diagnostic agent and hyposensitization agent of hay fever only with cedar pollen to it the place for which the allergen of a high grade is usually needed in large quantities.

[0006] Since it is such, in the therapy and prevention of the latest allergosis, like the former, a patient is not medicated with the whole allergen but the minimum area which the T cell in allergen recognizes specifically, i.e., the immunotherapy which prescribes for the patient the low-molecular peptide which essentially consists of a T cell epitope, is capturing the spotlight.

[0007] Generally, when allergen is incorporated by antigen presenting cells, such as a macrophage, it is digested there, and a digestive fragment will join together and antigen presentation will be carried out to the HLA protein of an immunity presentation cell cortex. The field which the fragment by which antigen presentation is carried out is restricted to some [in allergen] specific regions with the compatibility over HLA protein etc., and a T cell recognizes specifically among these fields is usually called a "T cell epitope." In the immunotherapy which prescribes for the patient the peptide which essentially consists of a T cell epitope (i) The peptide lacks the B cell epitope, namely, since a specific immunoglobulin E antibody does not react to allergen, side effects, such as anaphylaxis which had occurred frequently with the conventional poor quality or purification allergen, cannot happen.

(ii) It starts from small quantity and a period until it reaches an effective dose can be sharply shortened as compared with the conventional hyposensitization agent. There is which advantage.

[0008] At present, although the T cell epitope of various allergen is analyzed

energetically, as far as all the amino acid sequences of allergen usually become indispensable at the analysis of a T cell epitope and cedar pollen allergen is concerned at least, the actual condition is that a T cell epitope has come to be solved substantially.

[0009]

[Problem(s) to be Solved by the Invention] The first technical problem of this invention is in view of this situation to offer the peptide which essentially consists of a T cell epitope of cedar pollen allergen, and a peptide homonous to it.

[0010] The second technical problem of this invention is to offer the immunotherapy agent which comes to contain the above-mentioned peptide as an active principle.

[0011]

[Means for Solving the Problem] This invention will solve a specific T cell with the peptide activated intentionally to cedar pollen allergen as compared with a negative control, if said first technical problem is examined by the approach which does not react to an immunoglobulin E antibody specific to cedar pollen allergen substantially, but is judged by the incorporation of 3H-thymidine.

[0012] This invention solves said second technical problem by the immunotherapy agent which comes to contain this peptide as an active principle.

[0013]

[Embodiment of the Invention] The peptide of this invention activates a specific T cell to cedar pollen allergen, without causing anaphylaxis substantially, if the general mammals including Homo sapiens are medicated since it does not react to an immunoglobulin E antibody specific to cedar pollen allergen substantially.

[0014] The immunotherapy agent of this invention that comes to contain this peptide as an active principle demonstrates remarkable therapy and preventive effect to hay fever, without causing anaphylaxis substantially, if the general mammals including Homo sapiens are medicated.

[0015] Hereafter, this invention is based on discovery of the peptide which essentially consists of a T cell epitope of cedar pollen allergen that the example of an experiment, an example, etc. explain this invention.

[0016] As one result of the research concerning the cedar pollen allergen over many years, this invention persons traced having the amino acid sequence which one main component of cedar pollen allergen shows to the array number 14 in an array table, and indicated on the Japanese-Patent-Application-No. No. 344596 [five to] specifications last year. On the other hand, if one another component of cedar pollen allergen has the amino acid sequence shown in the array number 15 in an array table on international patent public presentation/[93rd] No. 01213 specifications, it will be indicated by them, and

this invention persons have also announced to them the same amino acid sequence in the "6th Japanese Society of Allergology spring clinical convention" held in Kumamoto, Kumamoto on 14 thru/or the 16th in April, Heisei 6.

[0017] Then, this invention person compounded the peptide of the amino acid sequence which is mutually [about 180 kind] different which consists of continuous 11 in these amino acid sequences, 14, or 17 amino acid residue based on the amino acid sequence shown in these array numbers 14 and 15 that the T cell epitope of cedar pollen allergen should be solved, and examined per [to the reactivity over an immunoglobulin E antibody specific to cedar pollen allergen, and a T cell specific to cedar pollen allergen] activation operation. Consequently, when the peptide which has the amino acid sequence shown in the array number 8 in an array table thru/or 13 was examined by the approach which does not react to an immunoglobulin E antibody specific to cedar pollen allergen substantially, and is judged by the incorporation of 3H-thymidine, it became clear [activating a specific T cell intentionally to cedar pollen allergen] as compared with the negative control. This has suggested that it is what the peptide which has the amino acid sequence shown in these array number 8 thru/or 13 essentially becomes from the T cell epitope of cedar pollen allergen. Moreover, when the amino acid sequence shown in the array number 8 thru/or 13 was analyzed further, it became clear that the amino acid sequence shown in the array number 1 of an array table thru/or 7 was an array indispensable in order that a T cell may recognize the peptide of the amino acid sequence shown in the array number 8 thru/or 13.

[0018] The following examples 1 and 2 of an experiment explain [which came to solve these facts] a series of experiments.

[0019]

[Preparation of an example of experiment 1 peptide, and cedar pollen allergen]

[0020]

[Preparation of an example of experiment 1-1 peptide] It is known as above-mentioned that at least two kinds of allergen from which a property and description are different exists in cedar pollen until now. The maturation protein of these cedar pollen allergen by recombinant DNA technology It is shown clearly that it has the amino acid sequence shown in the array number 14 in an array table or 15. Actually from cedar pollen Cedar pollen allergen of the amino acid sequence equivalent to the 46th in the amino acid sequence shown in the array number 14 thru/or the 433rd or the 51st thru/or the 433rd (it is hereafter called "Allergen A".) Cedar pollen allergen which has the 1st thru/or the 353rd amino acid sequence in the amino acid sequence shown in the array number 15 (it is hereafter called "Allergen B".) It is isolated. In addition, in the gene which carries out the code of the allergen A, since transit peptide is not decided, in the array number 14, the sign "1" is still provisionally

given to the amino acid residue of the beginning by the side of the amino terminal in the amino acid sequence decoded from the base sequence of cDNA.

[0021] In this example of an experiment, about the amino acid sequence shown in the array number 14 in an array table Covering the 46th thru/or 433rd field, and overlapping amino acid residue ten pieces at a time While carrying out chemosynthesis of the peptide (a sample A-1 thru/or A-95) of 95 kinds of different amino acid sequences which consist of 11 or 14 amino acid residue About the amino acid sequence shown in the array number 15 Covering the 1st thru/or 353rd field, and overlapping amino acid residue ten pieces at a time similarly Chemosynthesis of the peptide (a sample B-1 thru/or B-86) of 86 kinds of different amino acid sequences which consist of 14 amino acid residue was carried out, and the example 2 of the after-mentioned experiment for searching the peptide of this invention was presented.

[0022] That is, it checked consisting of 11 or 14 amino acid residue, compounding 181 kinds of peptides which have the amino acid sequence shown in the after-mentioned table 1 thru/or 6 according to a conventional method, by the solid phase technique which uses the peptide synthesis kit made from the Cambridge research biochemicals "multipin", taking the part after composition, and the Perkin-Elmer peptide sequencer "470A molds" analyzing, and having the expected amino acid sequence.

[0023]

[Preparation of example of experiment 1-2 cedar pollen allergen] It extracted at 4 degrees C for 1 hour, having been immersed in the 0.125M sodium-hydrogencarbonate water solution (pH8.2) of the about 16 weight section, and agitating quietly the pollen 1 weight section extracted from the male of URASUGI from Akita Prefecture. It put [so that it may put at 4 degrees C for 1 hour, agitating / so that the supernatant liquid of the supernatant liquid which carried out centrifugal separation of the extract, extracted residue again like the above, and was obtained, and the first time may be pooled and it may become 0.1% (w/v) to this about cetavlon / gently, polysaccharide may be settled and it may become 80% saturation about an ammonium sulfate after centrifugal separation and at supernatant liquid] at 4 degrees C one whole day and night, and salted out.

[0024] The precipitation section in a salting-out object is extracted, this was dialyzed to the 50mM tris-hydrochloric-acid buffer solution (pH7.8) for 10 hours, and elution of the fraction which carries out a load to the DEAE-sephadex column made to equilibrate with the 50mM tris-hydrochloric-acid buffer solution (pH7.8) beforehand, dips the same buffer solution fresh to a column, and contains a protein component was carried out after filtration. This fraction was extracted, the load was carried out to CM-sephadex column which added the acetic acid and was made to equilibrate

with 10mM acetic-acid buffer solution (pH5.0) beforehand after adjusting to pH5.0, 0.1M phosphate buffer (pH7.0) which contains 0.3M sodium chloride in a column for a column after washing with 10mM acetic-acid buffer solution (pH5.0) was dipped, and the fraction containing a protein component was extracted.

[0025] Next, Mono which this fraction was made to equilibrate with 10mM acetic-acid buffer solution (pH5.0) beforehand A load is carried out to S column. Under the concentration gradient of the sodium chloride which goes up a column from 0M to 0.5M after washing with 10mM acetic-acid buffer solution (pH5.0), the place which dipped 10mM phosphate buffer (pH7.0) in the column -- the sodium chloride concentration of the 0.1 thru/or 0.3 neighborhoods -- Allergen B -- moreover, Allergen A was eluted by the sodium chloride concentration near 0.4M. The fraction containing Allergen A and B was extracted separately, suitably, after concentration, it freeze-dried and the following example 2 of an experiment was presented. Yield was about 0.02% with Allergen B about 0.01% per raw material cedar pollen solid content and in Allergen A.

[0026]

[Retrieval of the peptide containing the T cell epitope of example of experiment 2 cedar pollen allergen]

[0027]

[Activation of a T cell specific to example of experiment 2-1 cedar pollen allergen] By the Ficoll-Hypaque-gradient-centrifugation method, the mononuclear cell group which contains a specific T cell in cedar pollen allergen was separated from a hay fever sufferer's heparinized peripheral blood. RPMI1640 culture medium (pH7.0) which supplemented this mononuclear cell group with AB blood serum 5% (v/v) is made to float. It pours distributively 5x105 pieces / well every on 96 well microplate. After making into 200microl / well the peptide prepared by the example 1-1 of an experiment, and 1-2, or cedar pollen allergen by 1microg / well ****, and the same fresh culture medium, it incubated for two days at 37 degrees C among the 5%CO2 incubator. Then, after adding 3H-thymidine 1.0microcurie / well every and incubating under the same conditions for further 16 hours, the amount of incorporation of the 3H-thymidine in a mononuclear cell group was measured by the well-known approach of using a scintillation counter. The system which does not contain peptide or cedar pollen allergen in coincidence, either was prepared, a measure was taken like the above, and it considered as the negative control.

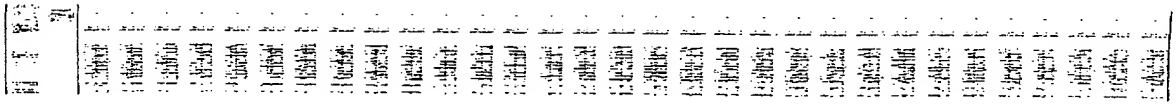
[0028] The existence of an activation operation to a T cell specific to cedar pollen allergen was judged based on the amount (cpm) of incorporation of the 3H-thymidine in the mononuclear cell group containing this T cell, made the "positivity" the system to which the amount of incorporation reached the

twice [more than] as many abbreviation for a negative control as this, and made "negative" the system which was not attained. A result is shown in Table 1 thru/or 6.

[0029]

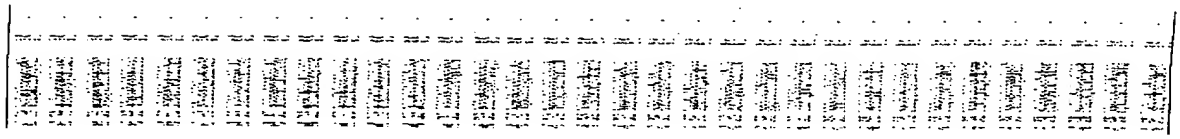
[Table 1]

試料	位置	アミノ酸配列	T細胞の活性化	ヒトイムノグロブリンE抗体に対する反応性（A492）
A-1	46-59	Arg-Lys-Val-Glu-His-Ser-Arg-His-Asp-Ala-Ile-Asn-Ile-Phe	陰性	−
A-2	51-64	Ser-Arg-His-Asp-Ala-Ile-Asn-Ile-Phe-Asn-Val-Glu-Lys-Tyr	陰性	−
A-3	55-68	Ala-Ile-Asn-Ile-Phe-Asn-Val-Glu-Lys-Tyr-Gly-Ala-Val-Gly	陰性	−
A-4	59-72	Phe-Asn-Val-Glu-Lys-Tyr-Gly-Ala-Val-Gly-Asp-Gly-Lys-His	陰性	−
A-5	63-76	Lys-Tyr-Gly-Ala-Val-Gly-Asp-Gly-Lys-His-Asp-Cys-Thr-Glu	陰性	−
A-6	67-80	Val-Gly-Asp-Gly-Lys-His-Asp-Cys-Thr-Glu-Ala-Phe-Ser-Thr	陰性	−
A-7	71-84	Lys-His-Asp-Cys-Thr-Glu-Ala-Phe-Ser-Thr-Ala-Trp-Gln-Ala	陰性	−
A-8	75-88	Thr-Glu-Ala-Phe-Ser-Thr-Ala-Trp-Gln-Ala-Ala-Cys-Lys-Lys	陰性	−
A-9	79-92	Ser-Thr-Ala-Trp-Gln-Ala-Ala-Cys-Lys-Lys-Pro-Ser-Ala-Met	陰性	−
A-10	83-96	Gln-Ala-Ala-Cys-Lys-Lys-Pro-Ser-Ala-Met-Leu-Leu-Val-Pro	陰性	−
A-11	87-100	Lys-Lys-Pro-Ser-Ala-Met-Leu-Leu-Val-Pro-Gly-Asn-Lys-Lys	陰性	−
A-12	91-104	Ala-Met-Leu-Leu-Val-Pro-Gly-Asn-Lys-Lys-Phe-Val-Val-Asn	陰性	−
A-13	95-108	Val-Pro-Gly-Asn-Lys-Lys-Phe-Val-Val-Asn-Asn-Leu-Phe-Phe	陰性	−
A-14	99-112	Lys-Lys-Phe-Val-Val-Asn-Asn-Leu-Phe-Phe-Asn-Gly-Pro-Cys	陰性	−
A-15	103-116	Val-Asn-Asn-Leu-Phe-Phe-Asn-Gly-Pro-Cys-Gln-Pro-His-Phe	陰性	−
A-16	107-120	Phe-Phe-Asn-Gly-Pro-Cys-Gln-Pro-His-Phe-Thr-Phe-Lys-Val	陰性	−
A-17	111-124	Pro-Cys-Gln-Pro-His-Phe-Thr-Phe-Lys-Val-Asp-Gly-Ile-Ile	陰性	−
A-18	115-128	His-Phe-Thr-Phe-Lys-Val-Asp-Gly-Ile-Ile-Ala-Ala-Tyr-Gln	陰性	−
A-19	119-132	Lys-Val-Asp-Gly-Ile-Ile-Ala-Ala-Tyr-Gln-Asn-Pro-Ala-Ser	陽性	−
A-20	123-136	Ile-Ile-Ala-Ala-Tyr-Gln-Asn-Pro-Ala-Ser-Trp-Lys-Asn-Asn	陽性	−
A-21	127-140	Tyr-Gln-Asn-Pro-Ala-Ser-Trp-Lys-Asn-Asn-Arg-Ile-Trp-Leu	陰性	−
A-22	131-144	Ala-Ser-Trp-Lys-Asn-Asn-Arg-Ile-Trp-Leu-Gln-Phe-Ala-Lys	陰性	−
A-23	135-148	Asn-Asn-Arg-Ile-Trp-Leu-Gln-Phe-Ala-Lys-Leu-Thr-Gly-Phe	陽性	−
A-24	139-152	Trp-Leu-Gln-Phe-Ala-Lys-Leu-Thr-Gly-Phe-Thr-Leu-Met-Gly	陰性	−
A-25	143-156	Ala-Lys-Leu-Thr-Gly-Phe-Thr-Leu-Met-Gly-Lys-Gly-Val-Ile	陰性	−
A-26	147-160	Gly-Phe-Thr-Leu-Met-Gly-Lys-Gly-Val-Ile-Asp-Gly-Gln-Gly	陰性	−
A-27	151-164	Met-Gly-Lys-Gly-Val-Ile-Asp-Gly-Gln-Gly-Lys-Gln-Trp-Trp	陰性	−
A-28	155-168	Val-Ile-Asp-Gly-Gln-Gly-Lys-Gln-Trp-Trp-Ala-Gly-Gln-Cys	陰性	−
A-29	159-172	Gln-Gly-Lys-Gln-Trp-Trp-Ala-Gly-Gln-Cys-Lys-Trp-Val-Asn	陰性	−
A-30	163-176	Trp-Trp-Ala-Gly-Gln-Cys-Lys-Trp-Val-Asn-Gly-Arg-Glu-Ile	陰性	−
A-31	167-180	Gln-Cys-Lys-Trp-Val-Asn-Gly-Arg-Glu-Ile-Cys-Asn-Asp-Arg	陰性	−



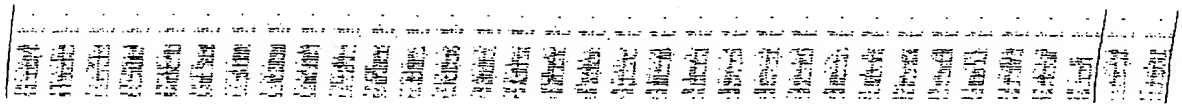
[Table 2]

A-32	171-184	Val-Asn-Gly-Arg-Glu-Ile-Cys-Asn-Asp-Arg-Asp-Arg-Pro-Thr	陰　性	−
A-33	175-188	Glu-Ile-Cys-Asn-Asp-Arg-Asp-Arg-Pro-Thr-Ala-Ile-Lys-Phe	陰　性	−
A-34	179-192	Asp-Arg-Asp-Arg-Pro-Thr-Ala-Ile-Lys-Phe-Asp-Phe-Ser-Thr	陰　性	−
A-35	183-196	Pro-Thr-Ala-Ile-Lys-Phe-Asp-Phe-Ser-Thr-Gly-Leu-Ile-Ile	陰　性	−
A-36	187-200	Lys-Phe-Asp-Phe-Ser-Thr-Gly-Leu-Ile-Ile-Gln-Gly-Leu-Lys	陰　性	−
A-37	191-204	Ser-Thr-Gly-Leu-Ile-Ile-Gln-Gly-Leu-Lys-Leu-Met-Asn-Ser	陰　性	−
A-38	195-208	Ile-Ile-Gln-Gly-Leu-Lys-Leu-Met-Asn-Ser-Pro-Glu-Phe-His	陰　性	−
A-39	199-212	Leu-Lys-Leu-Met-Asn-Ser-Pro-Glu-Phe-His-Leu-Val-Phe-Gly	陰　性	−
A-40	203-216	Asn-Ser-Pro-Glu-Phe-His-Leu-Val-Phe-Gly-Asn-Cys-Glu-Gly	陰　性	−
A-41	207-220	Phe-His-Leu-Val-Phe-Gly-Asn-Cys-Glu-Gly-Val-Lys-Ile-Ile	陰　性	−
A-42	211-224	Phe-Gly-Asn-Cys-Glu-Gly-Val-Lys-Ile-Ile-Gly-Ile-Ser-Ile	陰　性	−
A-43	215-228	Glu-Gly-Val-Lys-Ile-Ile-Gly-Ile-Ser-Ile-Thr-Ala-Pro-Arg	陰　性	−
A-44	219-232	Ile-Ile-Gly-Ile-Ser-Ile-Thr-Ala-Pro-Arg-Asp-Ser-Pro-Asn	陰　性	−
A-45	223-236	Ser-Ile-Thr-Ala-Pro-Arg-Asp-Ser-Pro-Asn-Thr-Asp-Gly-Ile	陰　性	−
A-46	227-240	Pro-Arg-Asp-Ser-Pro-Asn-Thr-Asp-Gly-Ile-Asp-Ile-Phe-Ala	陰　性	−
A-47	231-244	Pro-Asn-Thr-Asp-Gly-Ile-Asp-Ile-Phe-Ala-Ser-Lys-Asn-Phe	陰　性	−
A-48	235-248	Gly-Ile-Asp-Ile-Phe-Ala-Ser-Lys-Asn-Phe-His-Leu-Gln-Lys	陽　性	−
A-49	239-252	Phe-Ala-Ser-Lys-Asn-Phe-His-Leu-Gln-Lys-Asn-Thr-Ile-Gly	陽　性	−
A-50	243-256	Asn-Phe-His-Leu-Gln-Lys-Asn-Thr-Ile-Gly-Thr-Gly-Asp-Asp	陰　性	−
A-51	247-260	Gln-Lys-Asn-Thr-Ile-Gly-Thr-Gly-Asp-Asp-Cys-Val-Ala-Ile	陰　性	−
A-52	251-264	Ile-Gly-Thr-Gly-Asp-Asp-Cys-Val-Ala-Ile-Gly-Thr-Gly-Ser	陰　性	−
A-53	255-268	Asp-Asp-Cys-Val-Ala-Ile-Gly-Thr-Gly-Ser-Ser-Asn-Ile-Val	陰　性	−
A-54	259-272	Ala-Ile-Gly-Thr-Gly-Ser-Ser-Asn-Ile-Val-Ile-Glu-Asp-Leu	陰　性	−
A-55	263-276	Gly-Ser-Ser-Asn-Ile-Val-Ile-Glu-Asp-Leu-Ile-Cys-Gly-Pro	陰　性	−
A-56	267-280	Ile-Val-Ile-Glu-Asp-Leu-Ile-Cys Gly-Pro-Gly-His-Gly-Ile	陰　性	−
A-57	271-284	Asp-Leu-Ile-Cys-Gly-Pro-Gly-His-Gly-Ile-Ser-Ile-Gly-Ser	陰　性	−
A-58	275-288	Gly-Pro-Gly-His-Gly-Ile-Ser-Ile-Gly-Ser-Leu-Gly-Arg-Glu	陰　性	−
A-59	279-292	Gly-Ile-Ser-Ile-Gly-Ser-Leu-Gly-Arg-Glu-Asn-Ser-Arg-Ala	陰　性	−
A-60	283-296	Gly-Ser-Leu-Gly-Arg-Glu-Asn-Ser-Arg-Ala-Glu-Val-Ser-Tyr	陰　性	−
A-61	287-300	Arg-Glu-Asn-Ser-Arg-Ala-Glu-Val-Ser-Tyr-Val-His-Val-Asn	陰　性	−
A-62	291-304	Arg-Ala-Glu-Val-Ser-Tyr-Val-His-Val-Asn-Gly-Ala-Lys-Phe	陰　性	−
A-63	295-308	Ser-Tyr-Val-His-Val-Asn-Gly-Ala-Lys-Phe-Ile-Asp-Thr-Gln	陰　性	−
A-64	299-312	Val-Asn-Gly-Ala-Lys-Phe-Ile-Asp-Thr-Gln-Asn-Gly-Leu-Arg	陰　性	−



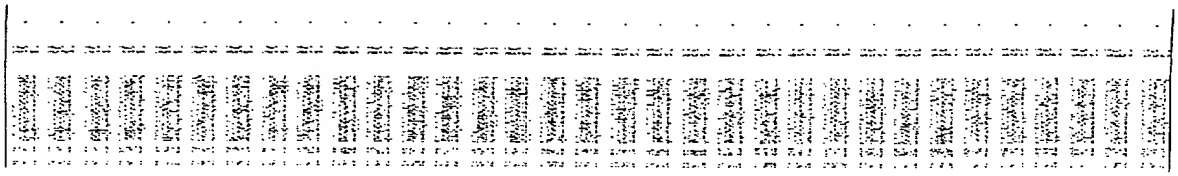
[Table 3]

A-65	303-316	Lys-Phe-Ile-Asp-Thr-Gln-Asn-Gly-Leu-Arg-Ile-Lys-Thr-Trp	陰性	−
A-66	307-320	Thr-Gln-Asn-Gly-Leu-Arg-Ile-Lys-Thr-Trp-Gln-Gly-Gly-Ser	陰性	−
A-67	311-324	Leu-Arg-Ile-Lys-Thr-Trp-Gln-Gly-Gly-Ser-Gly-Met-Ala-Ser	陰性	−
A-68	315-328	Thr-Trp-Gln-Gly-Gly-Ser-Gly-Met-Ala-Ser-His-Ile-Ile-Tyr	陰性	−
A-69	219-332	Gly-Ser-Gly-Met-Ala-Ser-His-Ile-Ile-Tyr-Glu-Asn-Val-Glu	陰性	−
A-70	223-336	Ala-Ser-His-Ile-Ile-Tyr-Glu-Asn-Val-Glu-Met-Ile-Asn-Ser	陰性	−
A-71	227-340	Ile-Tyr-Glu-Asn-Val-Glu-Met-Ile-Asn-Ser-Glu-Asn-Pro-Ile	陰性	−
A-72	231-344	Val-Glu-Met-Ile-Asn-Ser-Glu-Asn-Pro-Ile-Leu-Ile-Asn-Gln	陰性	−
A-73	235-348	Asn-Ser-Glu-Asn-Pro-Ile-Leu-Ile-Asn-Gln-Phe-Tyr-Cys-Thr	陰性	−
A-74	239-352	Pro-Ile-Leu-Ile-Asn-Gln-Phe-Tyr-Cys-Thr-Ser-Ala-Ser-Ala	陰性	−
A-75	243-356	Asn-Gln-Phe-Tyr-Cys-Thr-Ser-Ala-Ser-Ala-Cys-Gln-Asn-Gln	陰性	−
A-76	347-360	Cys-Thr-Ser-Ala-Ser-Ala-Cys-Gln-Asn-Gln-Arg-Ser-Ala-Val	陰性	−
A-77	351-364	Ser-Ala-Cys-Gln-Asn-Gln-Arg-Ser-Ala-Val-Gln-Ile-Gln-Asp	陰性	−
A-78	355-368	Asn-Gln-Arg-Ser-Ala-Val-Gln-Ile-Gln-Asp-Val-Thr-Tyr-Lys	陰性	−
A-79	359-372	Ala-Val-Gln-Ile-Gln-Asp-Val-Thr-Tyr-Lys-Asn-Ile-Arg-Gly	陰性	−
A-80	363-376	Gln-Asp-Val-Thr-Tyr-Lys-Asn-Ile-Arg-Gly-Thr-Ser-Ala-Thr	陰性	−
A-81	367-380	Tyr-Lys-Asn-Ile-Arg-Gly-Thr-Ser-Ala-Thr-Ala-Ala-Ala-Ile	陰性	−
A-82	371-384	Arg-Gly-Thr-Ser-Ala-Thr-Ala-Ala-Ala-Ile-Gln-Leu-Lys-Cys	陰性	−
A-83	375-388	Ala-Thr-Ala-Ala-Ala-Ile-Gln-Leu-Lys-Cys-Ser-Asp-Ser-Met	陰性	−
A-84	379-392	Ala-Ile-Gln-Leu-Lys-Cys-Ser-Asp-Ser-Met-Pro-Cys-Lys-Asp	陰性	−
A-85	383-396	Lys-Cys-Ser-Asp-Ser-Met-Pro-Cys-Lys-Asp-Ile-Lys-Leu-Ser	陰性	−
A-86	387-400	Ser-Met-Pro-Cys-Lys-Asp-Ile-Lys-Leu-Ser-Asp-Ile-Ser-Leu	陰性	−
A-87	391-404	Lys-Asp-Ile-Lys-Leu-Ser-Asp-Ile-Ser-Leu-Lys-Leu-Thr-Ser	陰性	−
A-88	395-408	Leu-Ser-Asp-Ile-Ser-Leu-Lys-Leu-Thr-Ser-Gly-Lys-Ile-Ala	陰性	−
A-89	399-412	Ser-Leu-Lys-Leu-Thr-Ser-Gly-Lys-Ile-Ala-Ser-Cys-Leu-Asn	陽性	−
A-90	403-416	Thr-Ser-Gly-Lys-Ile-Ala-Ser-Cys-Leu-Asn-Asp-Asn-Ala-Asn	陰性	−
A-91	407-420	Ile-Ala-Ser-Cys-Leu-Asn-Asp-Asn-Ala-Asn-Gly-Tyr-Phe-Ser	陰性	−
A-92	411-424	Leu-Asn-Asp-Asn-Ala-Asn-Gly-Tyr-Phe-Ser-Gly-His-Val-Ile	陰性	−
A-93	415-428	Ala-Asn-Gly-Tyr-Phe-Ser-Gly-His-Val-Ile-Pro-Ala-Cys-Lys	陰性	−
A-94	419-432	Phe-Ser-Gly-His-Val-Ile-Pro-Ala-Cys-Lys-Asn-Leu-Ser-Pro	陰性	−
A-95	423-433	Val-Ile-Pro-Ala-Cys-Lys-Asn-Leu-Ser-Pro-Ser	陰性	−
B-1	1-14	Asp-Asn-Pro-Ile-Asp-Ser-Cys-Trp-Arg-Gly-Asp-Ser-Asn-Trp	陰性	−
B-2	5-18	Asp-Ser-Cys-Trp-Arg-Gly-Asp-Ser-Asn-Trp-Ala-Gln-Asn-Arg	陰性	−



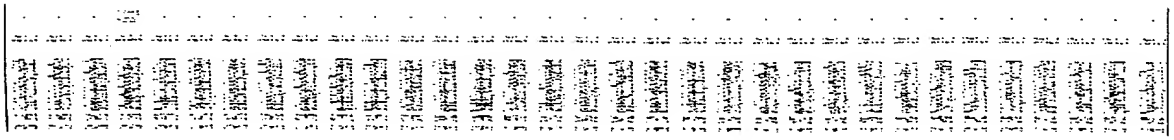
[Table 4]

B-3	9-22	Arg-Gly-Asp-Ser-Asn-Trp-Ala-Gln-Asn-Arg-Met-Lys-Leu-Ala	陰性	−
B-4	13-26	Asn-Trp-Ala-Gln-Asn-Arg-Met-Lys-Leu-Ala-Asp-Cys-Ala-Val	陰性	−
B-5	17-30	Asn-Arg-Met-Lys-Leu-Ala-Asp-Cys-Ala-Val-Gly-Phe-Gly-Ser	陰性	−
B-6	21-34	Leu-Ala-Asp-Cys-Ala-Val-Gly-Phe-Gly-Ser-Ser-Thr-Met-Gly	陰性	−
B-7	25-38	Ala-Val-Gly-Phe-Gly-Ser-Ser-Thr-Met-Gly-Gly-Lys-Gly-Gly	陰性	−
B-8	29-42	Gly-Ser-Ser-Thr-Met-Gly-Gly-Lys-Gly-Gly-Asp-Leu-Tyr-Thr	陰性	−
B-9	33-46	Met-Gly-Gly-Lys-Gly-Gly-Asp-Leu-Tyr-Thr-Val-Thr-Asn-Ser	陰性	−
B-10	37-50	Gly-Gly-Asp-Leu-Tyr-Thr-Val-Thr-Asn-Ser-Asp-Asp-Asp-Pro	陰性	−
B-11	41-54	Tyr-Thr-Val-Thr-Asn-Ser-Asp-Asp-Asp-Pro-Val-Asn-Pro-Ala	陰性	−
B-12	45-58	Asn-Ser-Asp-Asp-Asp-Pro-Val-Asn-Pro-Ala-Pro-Gly-Thr-Leu	陰性	−
B-13	49-62	Asp-Pro-Val-Asn-Pro-Ala-Pro-Gly-Thr-Leu-Arg-Tyr-Gly-Ala	陰性	−
B-14	53-66	Pro-Ala-Pro-Gly-Thr-Leu-Arg-Tyr-Gly-Ala-Thr-Arg-Asp-Arg	陰性	−
B-15	57-70	Thr-Leu-Arg-Tyr-Gly-Ala-Thr-Arg-Asp-Arg-Pro-Leu-Trp-Ile	陰性	−
B-16	61-74	Gly-Ala-Thr-Arg-Asp-Arg-Pro-Leu-Trp-Ile-Ile-Phe-Ser-Gly	陰性	−
B-17	65-78	Asp-Arg-Pro-Leu-Trp-Ile-Ile-Phe-Ser-Gly-Asn-Met-Asn-Ile	陰性	−
B-18	69-82	Trp-Ile-Ile-Phe-Ser-Gly-Asn-Met-Asn-Ile-Lys-Leu-Lys-Met	陰性	−
B-19	73-86	Ser-Gly-Asn-Met-Asn-Ile-Lys-Leu-Lys-Met-Pro-Met-Tyr-Ile	陰性	−
B-20	77-90	Asn-Ile-Lys-Leu-Lys-Met-Pro-Met-Tyr-Ile-Ala-Gly-Tyr-Lys	陰性	−
B-21	81-94	Lys-Met-Pro-Met-Tyr-Ile-Ala-Gly-Tyr-Lys-Thr-Phe-Asp-Gly	陰性	−
B-22	85-98	Tyr-Ile-Ala-Gly-Tyr-Lys-Thr-Phe-Asp-Gly-Arg-Gly-Ala-Gln	陰性	−
B-23	89-102	Tyr-Lys-Thr-Phe-Asp-Gly-Arg-Gly-Ala-Gln-Val-Tyr-Ile-Gly	陰性	−
B-24	93-106	Asp-Gly-Arg-Gly-Ala-Gln-Val-Tyr-Ile-Gly-Asn-Gly-Gly-Pro	陰性	−
B-25	97-110	Ala-Gln-Val-Tyr-Ile-Gly-Asn-Gly-Gly-Pro-Cys-Val-Phe-Ile	陰性	−
B-26	101-114	Ile-Gly-Asn-Gly-Gly-Pro-Cys-Val-Phe-Ile-Lys-Arg-Val-Ser	陰性	−
B-27	105-118	Gly-Pro-Cys-Val-Phe-Ile-Lys-Arg-Val-Ser-Asn-Val-Ile-Ile	陰性	−
B-28	109-122	Phe-Ile-Lys-Arg-Val-Ser-Asn-Val-Ile-Ile-His-Gly-Leu-Tyr	陰性	−
B-29	113-126	Val-Ser-Asn-Val-Ile-Ile-His-Gly-Leu-Tyr-Leu-Tyr-Gly-Cys	陰性	−
B-30	117-130	Ile-Ile-His-Gly-Leu-Tyr-Leu-Tyr-Gly-Cys-Ser-Thr-Ser-Val	陰性	−
B-31	121-134	Leu-Tyr-Leu-Tyr-Gly-Cys-Ser-Thr-Ser-Val-Leu-Gly-Asn-Val	陰性	−
B-32	125-138	Gly-Cys-Ser-Thr-Ser-Val-Leu-Gly-Asn-Val-Leu-Ile-Asn-Glu	陰性	−
B-33	129-142	Ser-Val-Leu-Gly-Asn-Val-Leu-Ile-Asn-Glu-Ser-Phe-Gly-Val	陰性	−
B-34	133-146	Asn-Val-Leu-Ile-Asn-Glu-Ser-Phe-Gly-Val-Glu-Pro-Val-His	陰性	−
B-35	137-150	Asn-Glu-Ser-Phe-Gly-Val-Glu-Pro-Val-His-Pro-Gln-Asp-Gly	陰性	−



[Table 5]

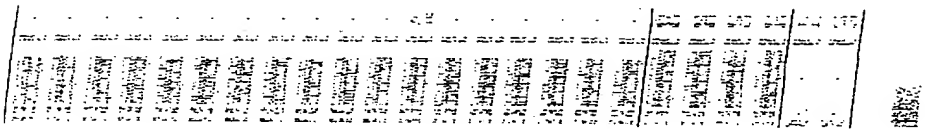
B-36	141-154	Gly-Val-Glu-Pro-Val-His-Pro-Gln-Asp-Gly-Asp-Ala-Leu-Thr	陰性	−
B-37	145-158	Val-His-Pro-Gln-Asp-Gly-Asp-Ala-Leu-Thr-Leu-Arg-Thr-Ala	陰性	−
B-38	149-162	Asp-Gly-Asp-Ala-Leu-Thr-Leu-Arg-Thr-Ala-Thr-Asn-Ile-Trp	陰性	−
B-39	153-166	Leu-Thr-Leu-Arg-Thr-Ala-Thr-Asn-Ile-Trp-Ile-Asp-His-Asn	陽性	0.074 (0.045)
B-40	157-170	Thr-Ala-Thr-Asn-Ile-Trp-Ile-Asp-His-Asn-Ser-Phe-Ser-Asn	陰性	−
B-41	161-174	Ile-Trp-Ile-Asp-His-Asn-Ser-Phe-Ser-Asn-Ser-Ser-Asp-Gly	陰性	−
B-42	165-178	His-Asn-Ser-Phe-Ser-Asn-Ser-Ser-Asp-Gly-Leu-Val-Asp-Val	陰性	−
B-43	169-182	Ser-Asn-Ser-Ser-Asp-Gly-Leu-Val-Asp-Val-Thr-Leu-Thr-Ser	陰性	−
B-44	173-186	Asp-Gly-Leu-Val-Asp-Val-Thr-Leu-Thr-Ser-Thr-Gly-Val-Thr	陰性	−
B-45	177-190	Asp-Val-Thr-Leu-Thr-Ser-Thr-Gly-Val-Thr-Ile-Ser-Asn-Asn	陰性	−
B-46	181-194	Thr-Ser-Thr-Gly-Val-Thr-Ile-Ser-Asn-Asn-Leu-Phe-Phe-Asn	陰性	−
B-47	185-198	Val-Thr-Ile-Ser-Asn-Asn-Leu-Phe-Phe-Asn-His-His-Lys-Val	陰性	−
B-48	189-202	Asn-Asn-Leu-Phe-Phe-Asn-His-His-Lys-Val-Met-Leu-Leu-Gly	陰性	−
B-49	193-206	Phe-Asn-His-His-Lys-Val-Met-Leu-Leu-Gly-His-Asp-Asp-Ala	陰性	−
B-50	197-210	Lys-Val-Met-Leu-Leu-Gly-His-Asp-Asp-Ala-Tyr-Ser-Asp-Asp	陰性	−
B-51	201-214	Leu-Gly-His-Asp-Asp-Ala-Tyr-Ser-Asp-Asp-Lys-Ser-Met-Lys	陰性	−
B-52	205-218	Asp-Ala-Tyr-Ser-Asp-Asp-Lys-Ser-Met-Lys-Val-Thr-Val-Ala	陰性	−
B-53	209-222	Asp-Asp-Lys-Ser-Met-Lys-Val-Thr-Val-Ala-Phe-Asn-Gln-Phe	陰性	−
B-54	213-226	Met-Lys-Val-Thr-Val-Ala-Phe-Asn-Gln-Phe-Gly-Pro-Asn-Cys	陰性	−
B-55	217-230	Val-Ala-Phe-Asn-Gln-Phe-Gly-Pro-Asn-Cys-Gly-Gln-Arg-Met	陰性	−
B-56	221-234	Gln-Phe-Gly-Pro-Asn-Cys-Gly-Gln-Arg-Met-Pro-Arg-Ala-Arg	陰性	−
B-57	225-238	Asn-Cys-Gly-Gln-Arg-Met-Pro-Arg-Ala-Arg-Tyr-Gly-Leu-Val	陰性	−
B-58	229-242	Arg-Met-Pro-Arg-Ala-Arg-Tyr-Gly-Leu-Val-His-Val-Ala-Asn	陰性	−
B-59	233-246	Ala-Arg-Tyr-Gly-Leu-Val-His-Val-Ala-Asn-Asn-Asn-Tyr-Asp	陰性	−
B-60	237-250	Leu-Val-His-Val-Ala-Asn-Asn-Asn-Tyr-Asp-Pro-Trp-Thr-Ile	陰性	−
B-61	241-254	Ala-Asn-Asn-Asn-Tyr-Asp-Pro-Trp-Thr-Ile-Tyr-Ala-Ile-Gly	陰性	−
B-62	245-258	Tyr-Asp-Pro-Trp-Thr-Ile-Tyr-Ala-Ile-Gly-Gly-Ser-Ser-Asn	陰性	−
B-63	249-262	Thr-Ile-Tyr-Ala-Ile-Gly-Gly-Ser-Ser-Asn-Pro-Thr-Ile-Leu	陰性	−
B-64	253-266	Ile-Gly-Gly-Ser-Ser-Asn-Pro-Thr-Ile-Leu-Ser-Glu-Gly-Asn	陰性	−
B-65	257-270	Ser-Asn-Pro-Thr-Ile-Leu-Ser-Glu-Gly-Asn-Ser-Phe-Thr-Ala	陰性	−
B-66	261-274	Ile-Leu-Ser-Glu-Gly-Asn-Ser-Phe-Thr-Ala-Pro-Asn-Glu-Ser	陰性	−
B-67	265-278	Gly-Asn-Ser-Phe-Thr-Ala-Pro-Asn-Glu-Ser-Tyr-Lys-Lys-Gln	陰性	−
B-68	269-282	Thr-Ala-Pro-Asn-Glu-Ser-Tyr-Lys-Lys-Gln-Val-Thr-Ile-Arg	陰性	−



[Table 6]

B-69	273-286	Glu-Ser-Tyr-Lys-Lys-Gln-Val-Thr-Ile-Arg-Ile-Gly-Cys-Lys	陰性	−
B-70	277-290	Lys-Gln-Val-Thr-Ile-Arg-Ile-Gly-Cys-Lys-Thr-Ser-Ser-Ser	陰性	−
B-71	281-294	Ile-Arg-Ile-Gly-Cys-Lys-Thr-Ser-Ser-Ser-Cys-Ser-Asn-Trp	陰性	−
B-72	285-298	Cys-Lys-Thr-Ser-Ser-Ser-Cys-Ser-Asn-Trp-Val-Trp-Gln-Ser	陰性	−
B-73	289-302	Ser-Ser-Cys-Ser-Asn-Trp-Val-Trp-Gln-Ser-Thr-Gln-Asp-Val	陰性	−
B-74	293-306	Asn-Trp-Val-Trp-Gln-Ser-Thr-Gln-Asp-Val-Phe-Tyr-Asn-Gly	陰性	−
B-75	297-310	Gln-Ser-Thr-Gln-Asp-Val-Phe-Tyr-Asn-Gly-Ala-Tyr-Phe-Val	陰性	−
B-76	301-314	Asp-Val-Phe-Tyr-Asn-Gly-Ala-Tyr-Phe-Val-Ser-Ser-Gly-Lys	陰性	−
B-77	305-318	Asn-Gly-Ala-Tyr-Phe-Val-Ser-Ser-Gly-Lys-Tyr-Glu-Gly-Gly	陰性	−
B-78	309-322	Phe-Val-Ser-Ser-Gly-Lys-Tyr-Glu-Gly-Gly-Asn-Ile-Tyr-Thr	陰性	−
B-79	313-326	Gly-Lys-Tyr-Glu-Gly-Gly-Asn-Ile-Tyr-Thr-Lys-Lys-Glu-Ala	陰性	−
B-80	317-330	Gly-Gly-Asn-Ile-Tyr-Thr-Lys-Lys-Glu-Ala-Phe-Asn-Val-Glu	陽性	0.077 (0.144)
B-81	321-334	Tyr-Thr-Lys-Lys-Glu-Ala-Phe-Asn-Val-Glu-Asn-Gly-Asn-Ala	陰性	−
B-82	325-338	Glu-Ala-Phe-Asn-Val-Glu-Asn-Gly-Asn-Ala-Thr-Pro-Gln-Leu	陰性	−
B-83	329-342	Val-Glu-Asn-Gly-Asn-Ala-Thr-Pro-Gln-Leu-Thr-Lys-Asn-Ala	陰性	−
B-84	333-346	Asn-Ala-Thr-Pro-Gln-Leu-Thr-Lys-Asn-Ala-Gly-Val-Leu-Thr	陰性	−
B-85	337-350	Gln-Leu-Thr-Lys-Asn-Ala-Gly-Val-Leu-Thr-Cys-Ser-Leu-Ser	陰性	−
B-86	340-353	Lys-Asn-Ala-Gly-Val-Leu-Thr-Cys-Ser-Leu-Ser-Lys-Arg-Cys	陰性	−
C-1	74-90	Lys-Val-Asp-Gly-Ile-Ile-Ala-Ala-Tyr-Gln-Asn-Pro-Ala-Ser-Trp-Lys-Asn	陽性	0.084 (0.053)
C-2	91-107	Asn-Arg-Ile-Trp-Leu-Gln-Phe-Ala-Lys-Leu-Thr-Gly-Phe-Thr-Leu-Met-Gly	陽性	0.089 (0.076)
C-3	192-208	Asp-Ile-Phe-Ala-Ser-Lys-Asn-Phe-His-Leu-Gln-Lys-Asn-Thr-Ile-Gly-Thr	陽性	0.071 (0.055)
C-4	352-368	Asp-Ile-Ser-Leu-Lys-Leu-Thr-Ser-Gly-Lys-Ile-Ala-Ser-Cys-Leu-Asn-Asp	陽性	0.081 (0.083)
アレルゲンA	−	−	陽性	1.281 (0.051)
アレルゲンB	−	−	陽性	0.818 (0.075)

註：括弧内の数値は、陰性対照におけるA492を示す。



[0030] It is shown that Table 1 thru/or the result of 6 carried out behavior from which the peptide and cedar pollen allergen with which the trial was presented differ clearly to a specific T cell to cedar pollen allergen. That is, by the system which added a sample A-19, A-20, A-23, A-48, A-49, A-89, B-39, B-80, or the cedar pollen allergen A and B, significant incorporation promotion was not accepted to incorporation promotion of clearly significant 3H-thymidine having been accepted in the system which added the sample of the complementary as compared with the negative control. This means that only the cedar pollen allergen A and B activated intentionally the T cell specific to the cedar pollen allergen in a mononuclear cell group in a sample A-19, A-20, A-23, A-48, A-49, A-89, B-39, and B-80 list.

[0031] Furthermore, the T cell activation operation carried out chemosynthesis of the peptide of the amino acid sequence shown in the array number 8 in a little low sample A-23 and the array table which consists of 17 amino acid residue separately per A-89 thru/or 11 to the sample A-19 which an amino acid sequence overlaps mutually, A-20, A-48, and A-49 list compared with other electropositive samples.

[0032] That is, milli JIEN / peptide synthesis machine made from a biotechnology research "Excel" was used, the peptide (a sample C-1 thru/or C-4) of the amino acid sequence shown in the array number 8 in an array table thru/or 11 was separately compounded according to the conventional method, and the reversed phase high pressure liquid chromatography which uses the Biorad chromatography column "Hi-Pore RP-318 mold" refined to 95% of purity, respectively. When a sample C-1 thru/or a part of C-4 were taken after purification and the Perkin-Elmer peptide sequencer "470A molds" analyzed, four kinds of all peptides concerning composition had the expected amino acid sequence.

[0033] When examined like the above these samples C-1 thru/or per C-4, all are positivities and it became clear that a specific T cell was intentionally activated to cedar pollen allergen.

[0034]

[Reactivity over an immunoglobulin E antibody specific to example of experiment 2-2 cedar pollen allergen] A specific T cell in the sample B-39 from which it became clear to be intentionally activated to cedar pollen allergen in the example 2-1 of an experiment, B-80, C-1, or C-4 list to Allergen A and B EIA which TANIAI and others has reported to "molecular immunology", the 30th volume, No. 2, and the 183-189th page (1993) -- law was applied and reactivity with a specific immunoglobulin E antibody was

investigated to the cedar pollen allergen extracted from a hay fever patient's blood.

[0035] namely, the product made from a pierced earring -- cross linking agent "(sulfo succinimidyl) SUBERATO (BS3)" 1g was dissolved in 10ml of distilled water, and it poured distributively 50microl / well every to the Nunc "KOBARINKU mold" 96 well microplate, and incubated at 37 degrees C for 3 hours. Distilled water washes a microplate, the sample B-39 prepared in the examples 1 and 2 of an experiment, B-80, C-1, C-4, or Allergen A and B is dissolved in PBS so that it may become [ml] in 20microg [ml] /or 5microg /, 50microl / well distributive pouring is carried out at a microplate, it incubated at 37 degrees C for further 3 hours, and covalent bond was carried out to the microplate. and PBS which contains bovine serum albumin 0.1% (w/v) after putting PBS which contains bovine serum albumin in a microplate 1% (w/v) at 50microl / well ****, and 4 degrees C overnight and blocking an unreacted active group -- washing -- bovine serum albumin -- tales-doses **** -- a hay fever patient's blood serum diluted with fresh PBS 5 times was made to react at 50microl / well ****, and 37 degrees C for 1 hour

[0036] Next, a microplate is washed by PBS which contains bovine serum albumin 0.1% (w/v). KIRUKE guard - and the - Perry biotin indicator anti-Homo sapiens epsilon chain antibody which were diluted [ml] with fresh PBS in 1microg /are added 50microl / well every. bovine serum albumin -- tales-doses **** -- After incubating at 37 degrees C for 1 hour, again by PBS which contains bovine serum albumin 0.1% (w/v) After washing, bovine serum albumin -- tales-doses **** -- the peroxidase labelling avidin made from ZAIMEDDO diluted with fresh PBS 5,000 times was incubated at 50microl / well ****, and 37 degrees C for further 1 hour. And after washing, under 100microl / well ****, and a room temperature, the 0.1M citric-acid-phosphate buffer (pH5.0) which contains 0.03% (v/v) and 0.5mg /of alt.phenylenediamines for a hydrogen peroxide ml was put for 5 minutes, and carried out the enzyme reaction by PBS which contains bovine serum albumin for a microplate 0.1% (w/v). After adding 2-N sulfuric acid 100microl / well every and stopping a reaction, the absorbance under the wavelength of 492nm was measured by the well-known approach of using a spectrophotometer.

[0037] The system which replaces with a cedar pollen patient's blood serum, and uses a healthy person's blood serum for coincidence was prepared, a measure was taken similarly, and it considered as the negative control. A result is shown in Table 1 thru/or 6.

[0038] A sample B-39, B-80 and C-1 thru/or C-4 did not react substantially to Allergen A and B having reacted to the cedar pollen allergen of the hay fever patient origin to a specific immunoglobulin E antibody strongly so that clearly from the result shown in Table 1 thru/or 6. This means lacking the B cell epitope of the cedar pollen allergen by which these samples are contained

in Allergen A and B. If these results and the result of the example 2-1 of an experiment are judged synthetically, it will be judged that the peptide of the amino acid sequence shown in the above-mentioned sample 8, i.e., the array number in an array table, thru/or 13 is what essentially consists of a T cell epitope of cedar pollen allergen.

[0039]

[Retrieval of an amino acid sequence indispensable in order that an example of experiment 3 T cell may recognize a T cell epitope] Six kinds of T cell epitopes clarified in the example 2 of an experiment were analyzed further, and in order that a T cell might recognize them, the indispensable amino acid sequence was searched with this example of an experiment.

[0040] That is, lessons was taken from the amino acid sequence of the sample B-38 which denied the positivity in the amino acid sequence list shown in the array number 8 in an array table thru/or 13, and did not go out in Table 5 thru/or 6 in it, B-81, and B-82 by the approach of the example 1-1 of an experiment, and chemosynthesis of the various peptides which consist of 14 amino acid which permuted 1 of the amino acid of those ends or both ends or two pieces or more by the alanine, or 17 pieces was carried out. And the reactivity over an immunoglobulin E antibody specific to activation and cedar pollen allergen of a T cell specific to cedar pollen allergen was investigated by the approach of the example 2 of an experiment about these peptides.

[0041] Consequently, as shown in Table 7, it became clear that the sample D-1 which comes to contain the amino acid sequence shown in the array number 1 of an array table thru/or 7 thru/or the peptide of D-7 showed the almost same behavior as the peptide of the amino acid sequence shown in the array number 8 thru/or 13 to an immunoglobulin E antibody specific to a T cell specific to cedar pollen allergen and cedar pollen allergen. The amino acid sequence which this shows to the array number 1 of an array table thru/or 7 has suggested strongly that it is an indispensable array, in order that a T cell may recognize the peptide of the amino acid sequence shown in the array number 8 thru/or 13.

[0042]

[Table 7]

試　料	アミノ酸配列	T細胞の活性化	ヒトイムノグロブリンE抗体に対する反応性（A492）
D-1	Lys-Val-Asp-Gly-Ile-Ile-Ala-Ala-Tyr-Gln-Asn-Ala-Ala-Ala-Ala-Ala-Ala	陽　性	0.079　(0.092)
D-2	Ala-Ala-Ala-Ala-Ile-Ile-Ala-Ala-Tyr-Gln-Asn-Pro-Ala-Ser-Ala-Ala-Ala	陽　性	0.082　(0.063)
D-3	Asn-Arg-Ile-Trp-Leu-Gln-Phe-Ala-Lys-Leu-Ala-Ala-Ala-Ala-Ala-Ala-Ala	陽　性	0.091　(0.059)
D-4	Ala-Ala-Phe-Ala-Ser-Lys-Asn-Phe-His-Leu-Gln-Lys-Ala-Ala-Ala-Ala-Ala	陽　性	0.085　(0.071)
D-5	Ala-Ala-Ser-Leu-Lys-Leu-Thr-Ser-Gly-Lys-Ile-Ala-Ser-Ala-Ala-Ala-Ala	陽　性	0.088　(0.089)
D-6	Leu-Thr-Leu-Arg-Thr-Ala-Thr-Asn-Ala-Ala-Ala-Ala-Ala-Ala	陽　性	0.076　(0.069)
D-7	Ala-Ala-Ala-Ala-Ala-Ala-Ala-Ala-Ala-Ala-Phe-Asn-Val-Glu	陽　性	0.089　(0.076)

[0043] As explained above, this invention does not react to an immunoglobulin E antibody specific to cedar pollen allergen substantially, but when it examines by the approach of judging by the incorporation of 3H-thymidine, it relates to the peptide which activates a specific T cell intentionally to cedar pollen allergen as compared with a negative control. As long as a peptide possesses this property, with respect to that structure, a source and the origin, and the preparation approach, this invention shall not exist and shall be included altogether.

[0044] the peptide of this invention -- usually -- 5 -- or 10 thru/or 20 amino acid come to carry out peptide linkage of the 50 pieces desirably As each peptide, what has the amino acid sequence shown in the array number 8 in an array table thru/or 13, and the thing which has a homonous amino acid sequence in these amino array are mentioned, for example. Without changing the above-mentioned immunological operation substantially, the peptide of a homonous amino acid sequence can permute two or more pieces from 1 of the amino acid in the amino acid sequence shown in the array number 8 in an array table thru/or 13, or other amino acid, or can obtain proper amino acid one piece or by combining two or more pieces to the end or both ends of these amino acid sequences.

[0045] In order that a T cell may recognize them in the amino acid sequence shown in the array number 8 of an array table thru/or 13, only an indispensable amino acid sequence is made eternal and, specifically, other amino acid permutes the other amino acid in the range which does not change substantially the immunological operation as a T cell epitope of cedar pollen. Or one piece or the peptide which is combined two or more pieces and obtained makes amino acid the number of amino acid residue, usual [the die length which can be recognized, i.e., usual, /, such as an alanine, / of a T cell], as a whole, and it is made to become 10 thru/or 20 pieces suitably if needed to the indispensable end or indispensable both ends of an amino acid sequence. As this amino acid sequence, the peptide of the amino acid sequence which the amino acid sequence shown in the array number 1 in an array table thru/or 7 is mentioned, and is shown in the array number 16 in an array table thru/or 24 as an example of this homologue can be mentioned, for example.

[0046] The peptide of this invention can be easily prepared with the peptide synthesis method of common use in the field known as a "solid phase technique" or a "liquid phase process." Although detailed explanation is omitted since this invention does not relate to the peptide synthesis itself, the detail of peptide synthesis is indicated by the Tokyo Kagaku Dojin issue in the edited by Japanese Biochemical Society "a new chemistry experiment lecture", the 1st volume, "protein VI", the 3-44th page, and 1992, for example. However, the peptide of this invention may not be limited to what was prepared

by chemosynthesis, for example, may decompose suitably the cedar pollen allergen which extracted from the pollen or the male of a Japan cedar, or was prepared by recombinant DNA technology, and may extract it from a decomposition product. Or DNA which carries out the code of the peptide which has the amino acid sequence shown in the array number 8 in an array table thru/or 13 or an amino acid sequence homonous to them, for example is prepared, it inserts in the vector which can replicate this autonomously and considers as a recombinant DNA, and Escherichia coli, a Bacillus subtilis, an Actinomyces, yeast, etc. may introduce this into a host suitably, it may consider as a transformant, and the peptide of this invention may be extracted from that culture. DNA which carries out the code of the peptide of the amino acid sequence shown in the array number 8 in an array table thru/or 13 can be prepared based on the base sequence of cDNA indicated by for example, the Japanese-Patent-Application-No. No. 344596 [five to] specification, and the international patent public presentation/[93rd] No. 01213 specification. Furthermore, the peptide of this invention may be a gestalt as the gestalt, the derivative which is made to carry out the bridge formation polymerization of the peptide with acetylation, amidation, and/or a polyfunctional reagent, and is obtained further, or polymer as complex which adds sugar and a polyethylene glycol to the peptide obtained thus, and is obtained.

[0047] The peptide of this invention is usually refined in advance of use, although expected therapy and preventive effect are demonstrated even if it prescribes a medicine for the patient with a comparatively **** gestalt. What is necessary is to use the approach of the common use in the field for refining a peptide thru/or protein, such as filtration, concentration, centrifugal separation, gel filtration chromatography, an ion-exchange chromatography GUFURA fee, a high speed liquid chromatography, affinity chromatography, gel electrophoresis, and isoelectric focusing, for purification, and just to combine these approaches with it suitably if needed. And what is necessary is to condense and freeze-dry the refined peptide according to an end-use gestalt, and just to make it liquefied or a solid state.

[0048] Since the peptide of this invention does not react to an immunoglobulin E antibody specific to cedar pollen allergen substantially but a specific T cell is moreover intentionally activated to cedar pollen allergen as above-mentioned, it has an application extensive as an immunotherapy agent for treating and preventing hay fever. The immunotherapy agent which comes to contain the peptide of this invention as an active principle can treat hay fever, without causing side effects, such as anaphylaxis, substantially, if the general mammals including the Homo sapiens suffered from hay fever are medicated. When medicating a healthy individual and the individual of potential hay fever with the immunotherapy agent of this invention before cedar pollen begins to disperse, while demonstrating a remarkable preventive effect to hay fever on the other

hand, higher efficacy is demonstrated to the remission of the allergy symptom at the time of the onset.

[0049] one sort of the peptide usually according [the immunotherapy agent of this invention] to this invention if it explains to the immunotherapy agent per pan of this invention in detail, or two sorts or more -- 0.01 thru/or 100% (w/w) -- desirable -- 0.05 thru/or 50% (w/w) -- further -- desirable -- 0.5 -- or it comes to contain 5.0% (w/w) The immunotherapy agent of this invention includes further the gestalt as a constituent with support, such as the serum albumin from the first with another gestalt peptide independent [concerned] permitted physiologically, gelatin, a mannitol, a maltose, and trehalose, an excipient, an immunoadjuvant, a stabilizer, one sort containing anti-inflammatory agents and antihistamines, such as steroid hormone and chestnut MOGURIKU acid sodium, or two sorts or more of other drugs if needed. Furthermore, the immunotherapy agent of this invention also includes the drugs of medication unit form voice, and the drugs of that medication unit form voice contain the amount which is equivalent to the dosage per day, its integral multiple (up to 4 times), or its divisor in the polypeptide of this invention (to 1/40), and mean the drugs in the pharmaceutical form of one suitable for administration separated physically. As drugs of such medication unit form voice, powder, a fine grain agent, a granule, a pill, a tablet, a capsule, the trochiscus, syrups, an emulsion, an ointment, plaster, cataplasms, suppositories, ophthalmic solutions, a nasal drop, a spray, injections, etc. are mentioned.

[0050] the general mammals in which the immunotherapy agent of this invention contains Homo sapiens for the purpose of the therapy and prevention of hay fever when the operation of the immunotherapy agent of this invention is explained -- transderma, taking orally, and the rhinenchysis -- a medicine is applied eyewash or injection prescribed for the patient although the dose in Homo sapiens changes even if it depends on the purpose and symptom of administration, while usually observing a candidate's symptom and the progress after administration -- an adult -- per [0.01] day thru/or 1.0g -- desirable -- 0.01 thru/or 0.1g -- a standard -- 1 time of 1 time of every week thru/or every month of frequency -- it is -- about 1 -- or repeated-dose administration is usually carried out for six months, increasing a dosage.

[0051] Hereafter, the example of 2-3 is given and explained about preparation of a peptide and the application by this invention.

[0052]

[Preparation of an example A-1 peptide] Milli JIEN / peptide synthesis machine made from a biotechnology research "Excel" was used, the peptide of the amino acid sequence shown in the array number 8 in an array table thru/or 11 was separately compounded according to the conventional method, and it

freeze-dried after purification to 95% of purity, respectively with the reversed phase high pressure liquid chromatography which uses the Biorad chromatography column "Hi-Pore RP-318 mold", and considered as the solid state material. When a part of solid state material was taken and the Perkin-Elmer peptide sequencer "470A molds" analyzed, four kinds of all peptides concerning composition had the expected amino acid sequence.

[0053]

[Preparation of an example A-2 peptide] The peptide synthesis kit made from the Cambridge research biochemicals "multipin" was used, and chemosynthesis of the peptide of the amino acid sequence shown in the array numbers 12 and 13 in an array table was separately carried out according to the conventional method, and like the example A-1, it freeze-dried after purification to 95% of purity, and considered as the solid state material, respectively. When a part of solid state material was taken and it was similarly analyzed as the example A-1, all had the expected amino acid sequence.

[0054]

[Preparation of an example A-3 peptide] Like the example A-1, chemosynthesis of the peptide of the amino acid sequence shown in the array number 16 in an array table was carried out, and it was refined to 95% of purity. When some peptides were taken after purification and it was similarly analyzed as the example A-1, it had the expected amino acid sequence.

[0055]

[Preparation of an example A-4 peptide] Like the example A-2, chemosynthesis of the peptide of the amino acid sequence shown in the array number 17 in an array table was carried out, and it was refined to 95% of purity. When some peptides were taken after purification and it was similarly analyzed as the example A-1, it had the expected amino acid sequence.

[0056]

[Preparation of an example A-5 peptide] Chemosynthesis of the peptide of the amino acid sequence shown in the array number 18 in the array table equivalent to the sample D-1 of the example 3 of an experiment thru/or D-7 thru/or 24 like an example A-1 thru/or A-2 was carried out, and it freeze-dried after purification to 95% of purity, and considered as the solid state material, respectively. When a part of solid state material was taken and the Perkin-Elmer peptide sequencer "470 molds" analyzed, seven kinds of all peptides concerning composition had the expected amino acid sequence.

[0057]

[Example B-1 liquids and solutions] It dissolved in distilled water which contains purified gelatin 1% (w/v) as a stabilizer so that it might become the last concentration of 0.1g/ml about either of six kinds of peptides obtained by the example A-1 and the approach of A-2, and sterilization filtration was carried out with the conventional method, and six kinds of liquids and solutions

were obtained.
[0058] Since usually changes for every individual as for the susceptibility over the peptide of this invention, this article uses six kinds of liquids and solutions, blending them suitably so that it may become the presentation which was most suitable for each individual. This article excellent in stability is useful as liquids and solutions for the ophthalmic solutions for treating and preventing hay fever, a nasal drop, and the sprays in the oral cavity.
[0059]
[Example B-2 injections] six kinds of peptides obtained by the example A-1 and the approach of A-2 to the physiological saline which contains a human serum albumin 1% (w/v) as a stabilizer -- respectively -- last concentration 0. -- after dissolving and carrying out sterilization filtration so that it may become [ml] in 01, 0.1, or 1mg /, 2ml was poured distributively into each sterilization vial bottle, and it freeze-dried and sealed into it.
[0060] In advance of administration, first, this article adds 1ml of distilled water for injection etc. in a vial bottle, and, subsequently to homogeneity, dissolves and uses contents. This article which is excellent in stability and comes to contain six kinds of polypeptides by this invention as an active principle is useful as desiccation injections for treating and preventing hay fever.
[0061]
[Example B-3 tablet] It was made to react at 5 degrees C under churning for 2 hours, dissolving with an average molecular weight of about 20,000dalton purification pullulan 2g in 100ml of distilled water at homogeneity, adding 2ml of 1.7% (w/v) acetone solutions of cyanuric chloride to a solution, and a sodium-carbonate water solution maintaining pH at the seven neighborhoods 5% (w/v). Then, keeping pH of a reactant the same to the seven neighborhoods, it dialyzed to 4-degree C cold water overnight, and 20ml of water solutions containing an activation pullulan was obtained.
[0062] The peptide of the amino acid sequence shown in the array numbers 8, 10, and 11 in the array table obtained by the approach of an example A-1 in this water solution, The peptide of the amino acid sequence shown in the array table obtained by the approach of an example A-2 at the array number 13, It was made to react at 37 degrees C for 12 hours, agitating gently adding the peptide obtained by the approach of an example A-3, and 0.2mg of peptides obtained by the approach of an example A-4, respectively, and maintaining pH of a solution at the seven neighborhoods. Having added 4g of glycines to the reactant after the reaction, and agitating gently, it incubated at 37 degrees C for 5 hours, and the unreacted active group was blocked.
[0063] The reactant was condensed, the load was carried out to G-sephadex 50 column made to equilibrate with 0.1M phosphate buffer (pH7.0) beforehand, the same buffer solution fresh to a column was dipped, and the fraction containing the peptide of this invention and the complex of a pullulan was

extracted. Yield was about 30% per raw material peptide solid content.
[0064] According to the conventional method, sterilization filtration was carried out, this fraction was condensed, it freeze-dried, the mannitol was mixed to homogeneity after grinding, mixture was tableted, and 2, 10, or the tablet included 50mg was obtained for product 1 lock (200mg) per complex.
[0065] This article excellent in intake nature and stability is useful as a hypoglottis agent for treating and preventing hay fever.
[0066]
[Example B-4 syrups] Dissolved 1g of purification lipopolysaccharide of the Escherichia coli origin in 100ml of 10mM calcium phosphate water solutions, added 6ml of 100mM periodic acid sodium to the solution, it was made to react for 20 minutes under a room temperature, and lipopolysaccharide was activated. After dialyzing a reactant overnight to the 4-degree C 1M glycine-hydrochloric-acid buffer solution (pH4.4) and removing unreacted periodic acid, While the 0.1M sodium-hydrogencarbonate buffer solution adjusts to the pH9.5 neighborhood It dissolves at a time separately 10mg of six kinds of peptides obtained by the example A-1 and the approach of A-2 in 100ml (pH7.0) of 0.1M phosphate buffers, respectively, and it put for 12 hours and was made to react under a room temperature in addition to the above-mentioned reactant containing activation lipopolysaccharide.
[0067] Then, the fraction which refines the newly obtained reactant by the approach of an example B-3, and contains the peptide of this invention and the complex of lipopolysaccharide which were obtained was condensed, and it freeze-dried, and it ground and considered as the solid state material. Yield was about 30% per raw material peptide solid content.
[0068] It dissolved in distilled water which contains purified gelatin 1% (w/v) as a stabilizer so that the last concentration might become 0.1, 1mg [ml] /, or 50% (w/w) about this solid state material and sucrose, respectively, and sterilization filtration of the solution was carried out with the conventional method, and the sirupy object was obtained. It poured distributively and sealed 2ml of this sirupy object at a time into the sterilization vial bottle, and considered as the product.
[0069] This article which is excellent in stability and contains the peptide of this invention and the complex of lipopolysaccharide as an active principle is useful as syrups for treating and preventing hay fever.
[0070]
[Example B-5 liquids and solutions] It dissolved in distilled water which contains purified gelatin 1% (w/v) as a stabilizer so that it might become the last concentration of 0.1g/ml about either of seven kinds of peptides obtained by the approach of an example A-5, and sterilization filtration was carried out with the conventional method, and seven kinds of liquids and solutions were obtained.

[0071] Since usually changes for every individual as for the susceptibility over the peptide of this invention, this article uses seven kinds of liquids and solutions, blending them suitably so that it may become the presentation which was most suitable for each individual. This article excellent in stability is useful as liquids and solutions for the ophthalmic solutions for treating and preventing hay fever, a nasal drop, and the sprays in the oral cavity.
[0072]
[Example B-6 injections] seven kinds of peptides obtained by the approach of an example A-5 to the physiological saline which contains a human serum albumin 1% (w/v) as a stabilizer -- respectively -- last concentration 0. -- after dissolving and carrying out sterilization filtration so that it may become [ml] in 01, 0.1, or 1mg /, 2ml was poured distributively into each sterilization vial bottle, and it freeze-dried and sealed into it.
[0073] In advance of administration, first, this article adds 1ml of distilled water for injection etc. in a vial bottle, and, subsequently to homogeneity, dissolves and uses contents. This article which is excellent in stability and comes to contain seven kinds of polypeptides by this invention as an active principle is useful as desiccation injections for treating and preventing hay fever.
[0074]
[Example B-7 syrups] Seven kinds of peptides which obtained purified gelatin by the approach of an example A-5 to distilled water included 1% (w/v) were dissolved, respectively so that it might become 50% (w/v) about ml, 0.1mg /, and sucrose, sterilization filtration of the solution was carried out with the conventional method, and the sirupy object was obtained. It poured distributively and sealed 2ml of this sirupy object at a time into the sterilization vial bottle, and considered as the product.
[0075] This article which is excellent in stability and contains the peptide of this invention as an active principle is useful as syrups for treating and preventing hay fever.
[0076]
[Example of experiment 4 acute toxicity test] the immunotherapy agent obtained by the example B-1 thru/or the approach of B-7 to the day [of after the birth / 20th] mouse the conventional method -- taking orally -- or it injected intraperitoneally. Consequently, as for these immunotherapy agent, it became clear that it was fifty percent lethal dose of 200 or more mg/kg according to any route of administration. This shows that combination use can be carried out to insurance at the immunotherapy agent with which the mammals in which the peptide of this invention contains Homo sapiens are medicated.
[0077]
[Effect of the Invention] As explained above, this invention is based on discovery of the peptide which essentially consists of a T cell epitope of cedar

pollen allergen. The peptide of this invention activates a specific T cell to cedar pollen allergen, without causing anaphylaxis substantially, if the mammals including Homo sapiens are medicated since it does not react to an immunoglobulin E antibody specific to cedar pollen allergen substantially. therefore -- if the mammals including Homo sapiens are medicated with the immunotherapy agent of this invention that comes to contain this peptide as an active principle -- a side effect -- it is few and remarkable therapy and preventive effect are demonstrated to hay fever for a short period of time. And the peptide of this invention can manufacture the amount of requests easily, and since quality control is also easy, it can use it for the therapy and prevention of hay fever extremely at insurance.

[0078] This invention to which **** also demonstrates the remarkable operation effectiveness can be called invention which has a great meaning in contributing-to the field sincerity.

[0079]

[Layout Table]

array number: -- die-length [of one array]: -- mold [of 11 arrays]: -- amino acid topology: -- class [of straight chain-like array]: -- peptide array Lys Val Asp Gly Ile Ile Ala Ala Tyr Gln Asn1 5 10 [0080] array number: -- die-length [of two arrays]: -- mold [of ten arrays]: -- amino acid topology: -- class [of straight chain-like array]: -- peptide array Ile Ile Ala Ala Tyr Gln Asn Pro Ala Ser1 5 10 [0081] array number: -- die-length [of three arrays]: -- mold [of ten arrays]: -- amino acid topology: -- class [of straight chain-like array]: -- peptide array Asn Arg Ile Trp Leu Gln Phe Ala Lys Leu1 5 10 [0082] array number: -- die-length [of four arrays]: -- mold [of ten arrays]: -- amino acid topology: -- class [of straight chain-like array]: -- peptide array Phe Ala Ser Lys Asn Phe His Leu Gln Lys1 5 10 [0083] array number: -- die-length [of five arrays]: -- mold [of 11 arrays]: -- amino acid topology: -- class [of straight chain-like array]: -- peptide array Ser Leu Lys Leu Thr Ser Gly Lys Ile Ala Ser1 5 10 [0084] array number: -- die-length [of six arrays]: -- mold [of eight arrays]: -- amino acid topology: -- class [of straight chain-like array]: -- peptide array Leu Thr Leu Arg Thr Ala Thr Asn1 5 [0085] array number: -- die-length [of seven arrays]: -- mold [of five arrays]: -- amino acid topology: -- class [of straight chain-like array]: -- peptide array Ala Phe Asn Val Glu1 5 [0086] array number: -- die-length [of eight arrays]: -- mold [of 17 arrays]: -- amino acid topology: -- class [of straight chain-like array]: -- peptide array Lys Val Asp Gly Ile Ile Ala Ala Tyr Gln Asn Pro Ala Ser Trp Lys Asn 1 5 10 15 [0087] array number: -- die-length [of nine arrays]: -- mold [of 17 arrays]: -- amino acid topology: -- class [of straight chain-like array]: -- peptide array Asn Arg Ile Trp Leu Gln Phe Ala Lys Leu Thr Gly Phe Thr Leu Met Gly 1 5 10 15 [0088] array number: -- die-length [of ten arrays]: -- mold [of 17 arrays]: -- amino acid topology: -- class [of straight chain-like array

]: -- peptide array Asp Ile Phe Ala Ser Lys Asn Phe His Leu Gln Lys Asn Thr Ile Gly Thr 1 5 10 15 [0089] array number: -- die-length [of 11 arrays]: -- mold [of 17 arrays]: -- amino acid topology: -- class [of straight chain-like array]: -- peptide array Asp Ile Ser Leu Lys Leu Thr Ser Gly Lys Ile Ala Ser Cys Leu Asn Asp 1 5 10 15 [0090] array number: -- die-length [of 12 arrays]: -- mold [of 14 arrays]: -- amino acid topology: -- class [of straight chain-like array]: -- peptide array Leu Thr Leu Arg Thr Ala Thr Asn Ile Trp Ile Asp His Asn 1 5 10 [0091] array number: -- die-length [of 13 arrays]: -- mold [of 14 arrays]: -- amino acid topology: -- class [of straight chain-like array]: -- peptide array Gly Gly Asn Ile Tyr Thr Lys Lys Glu Ala Phe Asn Val Glu 1 5 10 [0092] array number: -- die-length [of 14 arrays]: -- mold [of 514 arrays]: -- amino acid topology: -- class [of straight chain-like array]: -- protein origin living thing name: -- a Cryptomeria japonica individual and isolation living thing name: -- Japan cedar array Met Ala Met Lys Phe Ile Ala Pro Met Ala Phe Val Ala Met Gln Leu Ile 1 5 10 15 Ile Met Ala Ala Ala Glu Asp Gln Ser Ala Gln Ile Met Leu Asp Ser Asp 20 25 30 Ile Glu Gln Tyr LeuArg Ser Asn Arg Ser Leu Arg Lys Val Glu His Ser 35 40 4550 Arg His Asp Ala Ile Asn Ile Phe Asn Val Glu Lys Tyr Gly Ala Val Gly 55 60 65 Asp Gly Lys His Asp Cys Thr Glu Ala Phe Ser Thr Ala Trp Gln Ala Ala 70 75 **** . ** machine . ******. ******. ******. ******. ******. ******. ******. ****(1). ****(1). ******. ******. ******. ******. ******. ******. ******. ****** . **** . Pit machine . ****** . ******. ******. ******. ******. ****(1). ******. ******. ******. ******. ******. ******. ******. ******. ******. ******. ******. ******. ******. ******. ****** . **** machine . ****** . **** machine . ******. ******. ******. ******. ******. ******. ******. ******. ******. ******. ******. ******. ******. ******. ******. ******. ******. ****** . ****** . **** machine . ****** . **** machine . ******. ******. ******. ****(1). ******. ******. ******. ******. ****(1). ******. ******. ******. ******. ****(1). ******. ******. ****** . ****** . **** machine . ****** . ******. ******. ******. ******. ******. ******. ******. ******. ******. ******. ******. ******. ******. ******. ******. ******. ******. ****** . **** 190 195 200 Pro Glu Phe His Leu Val Phe Gly Asn Cys Glu Gly Val Lys Ile Ile Gly 205 210 215 220 Ile Ser Ile Thr Ala Pro Arg Asp Ser Pro Asn Thr Asp Gly Ile Asp Ile 225 230 235 Phe Ala Ser Lys Asn Phe His Leu Gln Lys Asn Thr Ile Gly Thr Gly Asp 240 245 250255 Asp Cys Val AlaIle Gly Thr Gly Ser Ser Asn Ile Val Ile Glu Asp Leu 260 265 270 Ile Cys Gly Pro Gly His Gly Ile Ser Ile Gly Ser Leu Gly Arg Glu Asn 275 280285 Ser Arg Ala GluVal Ser Tyr ValHis Val Asn Gly Ala Lys Phe Ile Asp 290 295 300 305 Thr Gln Asn Gly Leu Arg Ile Lys Thr Trp Gln Gly Gly Ser Gly Met Ala 310 315 320 Ser His Ile Ile Tyr Glu Asn Val Glu Met Ile Asn Ser Glu Asn Pro Ile 325 330 335340 Leu Ile Asn Gln Phe Tyr CysThr Ser Ala Ser Ala Cys Gln Asn Gln Arg 345 350 355 Ser Ala Val Gln Ile Gln Asp Val Thr Tyr Lys Asn Ile Arg Gly Thr Ser 360 365 370 Ala ThrAlaAla Ala Ile Gln Leu Lys Cys Ser Asp Ser Met Pro

Cys Lys 375 380 385 390 Asp Ile Lys Leu Ser Asp Ile Ser Leu Lys Leu Thr Ser Gly Lys Ile Ala 395 400 405 Ser Cys Leu Asn Asp Asn Ala Asn Gly Tyr Phe Ser Gly His Val Ile Pro 410 415 420425 AlaCysLys Asn Leu SerPro Ser Ala Lys Arg Lys Glu Ser Lys Ser His 430 435 440 Lys His Pro Lys Thr Val Met Val Lys Asn Met Gly Ala Tyr Asp Lys Gly 445 450 455 Asn Arg Thr Arg Ile Leu Leu Gly Ser Arg Pro Pro Asn Cys Thr Asn Lys 460 465 470 475 Cys His Gly Cys Ser Pro Cys Lys Ala Lys Leu Val Ile Val His Arg Ile 480 485 ****** . ******. ******. ******. ****(1). ******. ******. ******. ******. ******. ******. ******. ******. ******. ******. ******. ******. ******. ******. ****** . **** machine . ****** . **** machine . ****** . ******. ******. ******. **** [0093] array number: -- die-length [of 15 arrays]: -- mold [of 353 arrays]: -- amino acid topology: -- class [of straight chain-like array]: -- protein origin living thing name: -- a Cryptomeria japonica individual and isolation living thing name: -- Japan cedar array Asp Asn Pro Ile Asp Ser Cys Trp Arg Gly Asp Ser Asn Trp Ala Gln Asn 1 5 10 15 Arg Met Lys Leu Ala Asp Cys Ala Val Gly Phe Gly Ser Ser Thr Met Gly 20 25 30 Gly Lys Gly Gly AspLeu Tyr Thr Val Thr Asn Ser Asp Asp Asp Pro Val 35 40 4550 Asn Pro Ala Pro Gly Thr Leu Arg Tyr Gly Ala Thr Arg Asp Arg Pro Leu 55 60 65 Trp Ile Ile Phe Ser Gly Asn Met Asn Ile Lys Leu Lys Met Pro Met Tyr 70 75 80 85 Ile Ala Gly Tyr Lys Thr Phe Asp Gly Arg Gly Ala Gln Val Tyr Ile Gly 90 95 100 Asn Gly Gly Pro Cys Val Phe Ile Lys Arg Val Ser Asn Val Ile Ile His 105 110 115 Gly Leu Tyr Leu Tyr Gly Cys Ser Thr Ser Val Leu Gly Asn Val Leu Ile 120 125 130 135 AsnGlu Ser Phe Gly Val Glu Pro Val His Pro Gln Asp Gly Asp Ala Leu 140 145 150 Thr Leu Arg Thr Ala Thr Asn Ile Trp Ile Asp His Asn Ser Phe Ser Asn 155 160 165 170 Ser Ser Asp Gly Leu ValAsp Val Thr Leu Thr Ser Thr Gly Val Thr Ile 175 180 185 Ser Asn Asn Leu Phe Phe Asn His His Lys Val Met Leu Leu Gly His Asp 190 195 200 Asp Ala Tyr Ser Asp Asp Lys Ser Met Lys Val Thr Val Ala Phe Asn Gln 205 210 215 220 Phe GlyProAsn Cys GlyGln Arg Met Pro Arg Ala Arg Tyr Gly Leu Val 225 230 235 His Val Ala Asn Asn Asn Tyr Asp Pro Trp Thr Ile Tyr Ala Ile Gly Gly 240 245 250255 Ser Ser Asn ProThr Ile Leu SerGlu Gly Asn Ser Phe Thr Ala Pro Asn 260 265 270 Glu Ser Tyr LysLys GlnVal Thr Ile Arg Ile Gly Cys Lys Thr Ser Ser 275 280 285 Ser CysSerAsn Trp Val Trp Gln Ser Thr Gln Asp Val Phe Tyr Asn Gly 290 295 300 305 Ala Tyr PheValSer Ser GlyLys Tyr Glu Gly Gly Asn Ile Tyr Thr Lys 310 315 320 Lys Glu Ala Phe Asn Val Glu Asn Gly Asn Ala Thr Pro Gln Leu Thr Lys 325 330 335340 Asn Ala Gly Val Leu Thr Cys Ser Leu Ser Lys Arg Cys 345 350 [0094] array number: -- die-length [of 16 arrays]: -- mold [of 17 arrays]: -- amino acid topology: -- class [of straight chain-like array]: -- peptide array Asn Arg Ile Trp Leu Gln Phe Ala Lys Leu Gln Gly Phe Thr Leu Met Gly 1 5 10 15 [0095] array number: -- die-length [of 17 arrays]: -- mold [of 14 arrays]: -- amino acid topology: -- class [of straight chain-like array]: -- peptide array Leu Ala Leu Arg Thr Ala Thr Asn Ile Trp Ile Asp His Asn 1 5 10 [0096] array number: -- die-length [

of 18 arrays]: -- mold [of 17 arrays]: -- amino acid topology: -- class [of straight chain-like array]: -- peptide array Lys Val Asp Gly Ile Ile Ala Ala Tyr Gln Asn Ala Ala Ala Ala Ala Ala 1 5 10 15 [0097] array number: -- die-length [of 19 arrays]: -- mold [of 17 arrays]: -- amino acid topology: -- class [of straight chain-like array]: -- peptide array Ala Ala Ala Ala Ile Ile Ala Ala Tyr Gln Asn Pro Ala Ser Ala Ala Ala 1 5 10 15 [0098] array number: -- die-length [of 20 arrays]: -- mold [of 17 arrays]: -- amino acid topology: -- class [of straight chain-like array]: -- peptide array Asn Arg Ile Trp Leu Gln Phe Ala Lys Leu Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala 1 5 10 15 [0099] array number: -- die-length [of 21 arrays]: -- mold [of 17 arrays]: -- amino acid topology: -- class [of straight chain-like array]: -- peptide array Ala Ala Phe Ala Ser Lys Asn Phe His Leu Gln Lys Ala Ala Ala Ala Ala 1 5 10 15 [0100] array number: -- die-length [of 22 arrays]: -- mold [of 17 arrays]: -- amino acid topology: -- class [of straight chain-like array]: -- peptide array Ala Ala Ser Leu Lys Leu Thr Ser Gly Lys Ile Ala Ser Ala Ala Ala Ala 1 5 10 15 [0101] array number: -- die-length [of 23 arrays]: -- mold [of 14 arrays]: -- amino acid topology: -- class [of straight chain-like array]: -- peptide array Leu Thr Leu Arg Thr Ala Thr Asn Ala Ala Ala Ala Ala Ala 1 5 10 [0102] array number: -- die-length [of 24 arrays]: -- mold [of 14 arrays]: -- amino acid topology: -- class [of straight chain-like array]: -- peptide array Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Phe Asn Val Glu 1 5 10

[Translation done.]

* NOTICES *

JP 8-127591

CLAIMS

[Claim(s)]
[Claim 1] The peptide which will activate a specific T cell intentionally to cedar pollen allergen as compared with a negative control if it examines by the approach which does not react to an immunoglobulin E antibody specific to cedar pollen allergen substantially, but is judged by the incorporation of 3H-thymidine.
[Claim 2] The peptide according to claim 1 which comes to contain either of the amino acid sequences shown in the array number 1 in an array table thru/or 7.
[Claim 3] The peptide according to claim 1 or 2 which comes to contain one which is shown in the array number 8 in an array table thru/or 13 of amino acid sequences, or an amino acid sequence homonous to the amino acid sequence.
[Claim 4] An amino acid sequence given in the array number 1 of the array table in a peptide according to claim 1.
[Claim 5] An amino acid sequence given in the array number 2 of the array table in a peptide according to claim 1.
[Claim 6] An amino acid sequence given in the array number 3 of the array table in a peptide according to claim 1.
[Claim 7] An amino acid sequence given in the array number 4 of the array table in a peptide according to claim 1.
[Claim 8] An amino acid sequence given in the array number 5 of the array table in a peptide according to claim 1.
[Claim 9] An amino acid sequence given in the array number 6 of the array table in a peptide according to claim 1.
[Claim 10] An amino acid sequence given in the array number 7 of the array table in a peptide according to claim 1.
[Claim 11] The immunotherapy agent which comes to contain a peptide according to claim 1 to 3 as an active principle.

[Claim 12] They are 0.01 thru/or the immunotherapy agent according to claim 11 which it comes to contain 100% (w/w) about a peptide according to claim 1 to 3 as an active principle.
[Claim 13] The immunotherapy agent according to claim 11 or 12 which contains serum albumin, gelatin, a mannitol, a maltose, and/or trehalose as a stabilizer or an excipient.

[Translation done.]